REVUE SUISSE DE ZOOLOGIE
Tome 59, nº 4. — Mars 1952

Aus der Zoologischen Anstalt der Universität

Die innersekretorische Steuerung der postembryonalen Entwicklung von *Sialis lutaria* L. *(Megaloptera)*

von

URS HANSPETER RAHM

Basel

Mit 35 Textabbildungen.

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG

Seit der ersten Arbeit von Kopeč, in welcher er die Resultate seiner Versuche an Schmetterlingsraupen darstellte und zeigen konnte, dass die Metamorphose von *Lymantria dispar* durch einen stofflichen Reiz ausgelöst wird, haben sich viele Autoren mit diesem Problem beschäftigt. Vor allem durch die Arbeiten von Kühn, Piepho, Bounhiol, Bodenstein, Wigglesworth, Fukuda, Vogt u. a. wurde klargelegt, dass innersekretorische Drüsen Stoffe abgeben, welche den Metamorphoseablauf sowohl bei den holometabolen, als auch bei den hemimetabolen Insekten steuern. Man spricht direkt von einer hormonalen Wirkung und nennt den Stoff Metamorphosehormon. Die Experimente von Kopeč, Bounhiol und Williams liessen vermuten, dass bei den Schmetterlingen das Raupengehirn für die Entwicklung von Bedeutung sei, was Wigglesworth auch bei *Rhodnius* nachweisen konnte. Pflugfelder, Bounhiol, Fukuda, Piepho und Wigglesworth zeigten andererseits, dass die Corpora allata ein Hormon ausscheiden, welches einen metamorphosehemmenden Einfluss ausübt. Dieser Stoff wird auch als Larvenhäutungshormon oder Juvenilhormon bezeichnet. Die Verhältnisse bei den Dipteren, welche von denen der übrigen Insekten etwas abweichen, werden in dieser Arbeit nicht berücksichtigt.

Da bis dahin hauptsächlich die Schmetterlinge der holometabolen Insekten zu Experimenten auf diesem Gebiet gebraucht wurden, war es wünschenswert, ein anderes Insekt mit vollkommener Verwandlung zu untersuchen. Die Megaloptere *Sialis lutaria* L. schien zu diesem Zweck geeignet, da Geigy u. Ochsé (1940), Ochsé (1944) und Geigy (1947) die inneren Faktoren der Meta-

morphose zu analysieren begannen. Ausserdem wurde der Entwicklungszyklus von *Sialis lutaria* L. am Sempachersee und in Laboratoriumszuchten eingehend untersucht und abgeklärt durch Du Bois u. Geigy (1935), Geigy (1937) und Du Bois (1936 u. 1938). Für die weitere Literatur über *Sialis* verweise ich auf die Literaturverzeichnisse der eben genannten Arbeiten.

Für das bessere Verständnis der Versuche der vorliegenden Arbeit ist es notwendig, den Entwicklungszyklus von *Sialis lutaria* L. nach den Angaben von Du Bois u. Geigy (1935) kurz zu rekapitulieren:

Während der Monate Mai und Juni sind die Imagines von *Sialis lutaria* L. in unserem Untersuchungsgebiet in grosser Zahl anzutreffen. Nach erfolgter Begattung legen die Weibchen ihre Eier an den Schilfhalmen über dem Wasser ab. Nach 8—10 Tagen schlüpfen die Junglarven aus und fallen ins Wasser. Bis zur ersten Häutung leben sie planktontisch über dem Wurzelgeflecht des Schilfes, um dann im Seeschlamm in ca. 18 m Tiefe zu wandern. Die Dauer des Larvenlebens im See beträgt zwei Jahre. Im ersten Jahr finden 7 Larvenstadien (die sogenannten erstjährigen Larven) und 7 Häutungen statt, im zweiten Jahr 3 Larvenstadien (die sogenannten zweitjährigen Larven) und 3 Häutungen.

1. Stadium: 2—3 mm. Kopf breiter als Thorax. Abdomen noch unscheinbar.
    1. Häutung im Verlauf der ersten Woche.
2. Stadium: 3—4 mm. Definitiver morphologischer Habitus erreicht.
    2. Häutung ca. nach 3 Wochen (ca. Mitte Juni).
3. Stadium: ca. 6 mm.
    3. Häutung nach 3 Wochen (Juni/Juli).
4. Stadium: 8—9 mm.
    4. Häutung nach 4 Wochen (Juli/August).
5. Stadium: 10 mm.
    5. Häutung nach 6 Wochen (September).
6. Stadium: 11 mm. Larven überwintern in diesem Zustand im Seeschlamm bei 2—3° C.
    6. Häutung nach 3—4 Monaten (Januar).
7. Stadium: 12 mm.
    7. Häutung nach 2 Monaten (März).

8. Stadium: 13—14 mm. Ausprägung des Geschlechtsdimorphismus.
   8. Häutung nach 3 Monaten (Juni).
9. Stadium: ♂ 15 mm, ♀ 19—20 mm.
   9. Häutung nach 3 Monaten (September).
10. Stadium: ♂ 16—19 mm, ♀ 18—23 mm. In der Natur Diapause im Seeschlamm bis im Frühjahr.
    10. Häutung erfolgt, nachdem die verpuppungsreifen Larven an Land gewandert sind. Die Puppe gräbt sich in den Ufersand ein.
    Puppenhäutung nach 5—7 Tagen.
    Imago.

Während der Wanderung der zweitjährigen, reifen Larven ans Ufer wird der Inhalt der 7 Paar Abdominalkiemen und des Schwanzfadens retrahiert. Diese Retraktion ist ein sicheres Anzeichen beginnender Metamorphose [1]. Der morphologische Verlauf der Metamorphose wurde von Geigy (1937) bereits eingehend studiert; ich verweise daher auf diese Arbeit.

Leider ist es bei *Sialis* nicht möglich, den genauen Zeitpunkt der Larvenhäutungen vorauszubestimmen. Bis jetzt ist es noch nicht gelungen, *Sialis* vom Ei bis zur Imago im Laboratorium aufzuziehen. Im Laboratorium findet keine Eiablage statt; Larven des ersten Stadiums nehmen kein Futter zu sich und gehen nach wenigen Tagen ein. Die einzelnen Larvenhäutungen eines Individuums liegen 2—3 Monate auseinander, sind nicht vorausbestimmbar und man weiss nicht, durch welche internen und externen Einflüsse sie ausgelöst werden.

Die experimentellen Arbeiten von Geigy u. Ochsé, Ochsé und Geigy über die inneren Faktoren der Metamorphose bilden den Ausgangspunkt für die vorliegende Arbeit. Die Resultate dieser Autoren seien deshalb kurz zusammengefasst:

Durch Kopfschnürung an Larven des letzten Larvenstadiums konnten die Verfasser zeigen, dass die Metamorphose des Kopfes ohne Thorax und Abdomen nicht stattfinden kann; Thorax und Abdomen hingegen metamorphosieren ohne Kopf normal. Schnürungen zwischen dem 2. und 3. Abdominalsegment verhindern die

[1] Vergl. S. 192.

Verpuppung des Abdominalteiles, der hinter der Ligatur liegt, während sich Thorax und Kopf zur Puppe verwandeln können. Die Ergebnisse dieser Schnürungsversuche sowie der Parabioseversuche von OCHSÉ führten zur Annahme, dass die Metamorphose durch einen hormonalen Stoff ausgelöst werde. Bei Schnürung zwischen Thorax und Abdomen erhielten GEIGY u. OCHSÉ im vorderen und hinteren Körperteil nur eine Teilverpuppung, die je nach dem Zeitpunkt der Schnürung mehr oder weniger weit fortgeschritten war. Wurde vor dem 5. Tag vor Metamorphosebeginn geschnürt, so bleibt der Vorderteil auf einem relativ frühen Metamorphosestadium stehen, der Hinterteil zeigt Kiemenretraktion bis ins 3. oder 4. Segment. Erfolgte die Schnürung 4—0 Tage vor der Verwandlung, so schreitet diese etwas weiter fort, im Hinterteil z.B. bis zur völligen Kiemenretraktion. Die Autoren vermuteten an Hand dieser Ergebnisse eine Emissionszone auf der Grenze zwischen Thorax und Abdomen, welche durch die Ligatur zweigeteilt wurde. Ich werde auf diese Resultate später zurückkommen.

Durch Extirpation und Transplantation von Thoraxganglien konnte OCHSÉ (1944) keine weiteren Aufschlüsse über dieses Emissionszentrum erhalten, da die Versuche kein positives Resultat zeigten. Durch Parabioseversuche, in welchen zwei dekapitierte Larven des letzten Larvenstadiums vereinigt wurden, von denen die eine *kurz* vor der kritischen Periode, die andere *10-30 Tage* vor dieser stand, konnte gezeigt werden, dass die Metamorphose der beiden Larven durch den hormonalen Stoff synchronisiert wird. Bei Parabiosen zwischen zweitjährigen und erstjährigen Larven trat die Metamorphose ebenfalls synchron auf.

Meinem verehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. R. GEIGY, möchte ich auch an dieser Stelle herzlich für die Ueberlassung des Themas, sein Interesse an dieser Arbeit und die stetige Unterstützung danken. Ebenso dafür, dass er mir immer in freundlicher Weise die Beschaffung des Untersuchungsmaterials ermöglichte.

MATERIAL UND TECHNIK

Die für die Untersuchungen verwendeten Tiere wurden alle am Sempachersee zwischen Eich und Sempach nach der von DU BOIS u. GEIGY (1935) beschriebenen Methode gefangen. Die

Angaben von Du Bois u. Geigy über Aufenthaltsort, Larvenstadien und Grösse der Sialislarven wurden durch meine Fänge während dreier Jahre vollauf bestätigt. Die Larven wurden im Laboratorium auch sofort einzeln in Kristallisierschalen von ca. 5 cm Durchmesser gebracht, da sie sich sonst gegenseitig auffrassen. Die Schalen wurden in der Regel im Eisschrank bei 4—6° C aufbewahrt, da diese Temperatur das ganze Jahr hindurch beibehalten werden konnte. Es wurden jeweils nur soviele Tiere gefangen, als für die Versuche gerade benötigt wurden, so dass immer relativ frisches Material aus dem natürlichen Milieu zur Verfügung stand. Leider war es auch mir nicht möglich, die Sialislarven vom Ei an zu züchten, da die gleichen Schwierigkeiten auftraten, wie bei Du Bois u. Geigy.

Um das jeweilige Stadium der Larven zu bestimmen, wurde die Länge der Tiere von der Kopfspitze bis zum After gemessen und nach den Angaben von Du Bois u. Geigy das Larvenstadium ermittelt. Vor der Operation wurden die Larven jeweils in Wasser, dem einige Tropfen Aether beigegeben war, narkotisiert. Diese Narkose wurde von den Tieren gut ertragen, doch klebten oft durch die Aethereinwirkung die Kiemen am Abdomen fest. Um dies zu verhindern, wurden die Larven nach der Narkotisierung für einige Sekunden in 70% igen Alkohol gebracht. Diese Methode wurde auch von Piepho (1946) angewandt und zeigte keinen nachteiligen Einfluss auf die Tiere. Nach der Operation wurden die Larven in den Kristallisierschalen im Laboratorium aufbewahrt und das Wasser alle zwei Tage gewechselt. Nach begonnener Metamorphose wurden die Tiere für die weitere Entwicklung auf feuchte Watte gelegt.

Die eingegangenen Versuchstiere wurden für eventuelle histologische Untersuchungen in Dubosq-Brasil fixiert. Die 7 µ dicken Schnitte wurden nach der Paraffin-Celloidin-Methode hergestellt. Zur Färbung diente Delafield's Eisen-Haematoxylin. Die Mikrophotographien wurden mit einer Wild-Mikro-Kamera aufgenommen. Die Larven, Puppen und Imagines wurden mit einer Kiné-Exacta photographiert. Alle näheren Angaben über Schnürungen und Transplantationen finden sich bei den jeweiligen Versuchen.

I. MORPHOLOGISCHER UND HISTOLOGISCHER TEIL

A. Inkretorische Organe des Kopfes.

1. *Lage und Innervation des Cerebrum, d. Corpus cardiacum u. d. Corpora allata.*

Als Erster erwähnte Hanström (1942) die Lage des Corpus cardiacum und der Corpora allata von *Sialis lutaria*. Cazal gibt

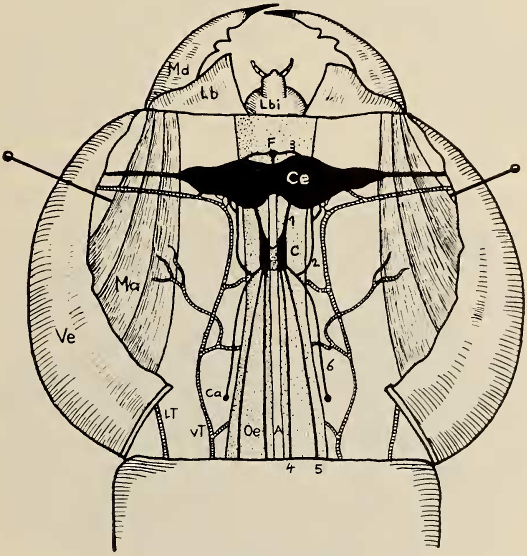


Abb. 1.

Md. = Mandibel
Lb. = Labrum
Lbi. = Labium
Ve = Vertex (Augen nicht sichtbar)
Ma = Musc. adductor mandibularis I
lT = lateraler Tracheenhauptstamm
vT = ventraler Tracheenhauptstamm
Oe = Oesophagus
A = Aorta
F = Frontalganglion

Ce = Cerebrum
C = Corpus cardiacum
Ca = Corpus allatum
1 = Nervus cardiacus internus
2 = » » externus
3 = Frontalkonnektiv
4 = Nervus aorticus
5 = » oesophagus
6 = » allatus
Hypocerebralganglion und Nervus recurrens verdeckt.

1948 eine genauere Beschreibung von den Corpora cardiaca und Corpora allata und ihrer Innervation bei *Sialis*. Beide Autoren beschränken sich auf die Verhältnisse bei der Imago. Uebereinstimmend stellen sie die Vereinigung der beiden Corpora cardiaca

zu einem Organkomplex und die entfernte Lage der Corpora allata von diesem Organ fest. Es hat sich gezeigt, dass die Disposition der innersekretorischen Kopforgane bei der Larve mit derjenigen bei der Imago übereinstimmt.

Die Zeichnung (Abb. 1) gibt die Verhältnisse bei einer zweitjährigen Larve wieder. Die Kopfkapsel wurde dorsal längs geöffnet und seitlich auseinandergeklappt. Es wurde darauf geachtet, (abgesehen von der seitlichen Zerrung), die Lage- und Grössenverhältnisse der einzelnen Organe richtig darzustellen.

Das Cerebrum ist ziemlich gross und bei wenig pigmentierten Tieren durch die Kopfkapsel hindurch sichtbar. Von den Lobi optici führt je eine Verbindung zu den Augen. Vor dem Cerebrum liegt das kleine Frontalganglion, welches durch die Nervi frontales mit dem Gehirn verbunden ist. Die Corpora cardiaca sind auf den hinteren zwei Dritteln miteinander vereinigt und wirken dadurch äusserlich als unpaares Organ. Dieses liegt auf dem Oesophag und wird von der Aorta überlagert. Die beiden Nervi cardiaci interni verbinden das Corpus cardiacum mit dem Cerebrum. Vom Corpus cardiacum aus führen die zwei Nervi aortici unter der Aorta caudalwärts. Die Nervi oesophagi entspringen dem Hypocerebralganglion und ziehen dem Oesophagus entlang thoracalwärts. Neben den Nervi aortici münden die beiden Nervi allati in das Corpus cardiacum ein. Diese zwei Nerven verbinden die beiden kleinen Corpora allata, welche weit caudalwärts im Kopf liegen, mit den Corpora cardiaca. Kurz vor der Einmündung der beiden Allata-Nerven in das Corpus cardiacum zweigen die zwei Nervi cardiaci externi ab und führen rostralwärts zum Gehirn. Ihnen entspringen seitlich zwei weitere Nerven, die Nervi laterales.

2. *Das Cerebrum.*

Das Cerebrum (Abb. 2) von *Sialis lutaria* ist nach dem allgemeinen Grundplan des Insektengehirns gestaltet. Protocerebrum, Deutocerebrum und Tritocerebrum sind gut zu erkennen. Im Protocerebrum leitet je eine Verbindung vom Lobus opticus zu den Augen. Die beiden Hemisphären sind in der Mitte deutlich voneinander getrennt. Die Antennennerven führen vom Deutocerebrum zu den Antennen. Vom Tritocerebrum ziehen sich Nerven zum Frontalganglion und zum Labrum.

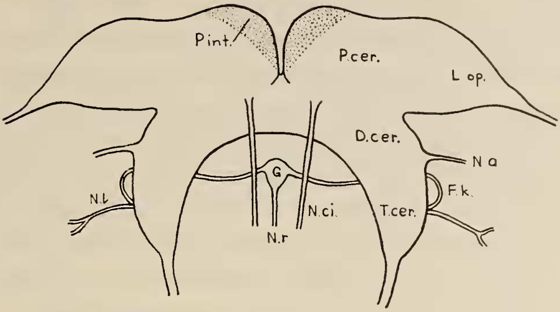


Abb. 2.

Cerebrum, Schema (Ansicht von hinten).

P. cer. = Protocerebrum
D. cer. = Deutocerebrum
T. cer. = Tritocerebrum
L. op. = Lobus opticus
P. int. = Pars intercerebralis
G = Frontalganglion
F. k. = Frontalkonnektiv
N. r. = Nervus recurrens
N. ci. = Nervus cardiacus internus
N. a. = Nervus antennalis
N. l. = Nervus labralis



Abb. 3.

Mikrophoto. Cerebrum zweitjähriger Larve (Stad. 9). Vergr. 380 ×.

Die Mikrophotographie zeigt einen Querschnitt durch das Cerebrum, in welchem alle drei Gehirnteile getroffen sind. Gut sichtbar sind zwei Kommissuren, lateral davon die Globuli und die Antennalglomeruli.

Besondere Beachtung verdient eine Gruppe von grossen Nervenzellen, die im dorsalen Teil des Pars intercerebralis des Protocere-

brums liegen. Auf der Photographie sind in der linken Hemisphäre drei, in der rechten sieben Kerne sichtbar. Diese Zellen können in den Serienschnitten über 6 Schnitte hin verfolgt werden. WILLIAMS (1948) konnte im Hirn von *Cecropia* eine mediale und eine laterale Gruppe ähnlicher Zellen in den beiden Partes intercerebrales nachweisen. PFLUGFELDER (1949) hingegen fand im Stabheuschreckengehirn keine solchen Zellen in den beiden Hemisphären des Protocerebrums. 1938 beschrieb HANSTRÖM ähnliche grosse Nervenzellen im dorsalen Teil des Protocerebrums von adulten *Rhodnius*; Teile dieser Zellen lassen sich mit Säurefuchsin färben. WIGGLESWORTH (1940) konnte sie bei Rhodniuslarven nachweisen. Es gelang ihm aber nicht, irgendwelche Unterschiede dieser Zellen zwischen Hungertieren und Tieren in der Sekretionsphase festzustellen. Die Zellen haben die gleiche periphere Lage wie die bei *Sialis* beschriebenen Transplantationsexperimente mit diesen Intercerebralteilen an anderen Insekten bewiesen, dass es sich um neurosekretorische Zellen handelt. Auf ihre mögliche sekretorische Bedeutung im Gehirn von *Sialis* während der Entwicklung werde ich im experimentellen Teil zurückkommen.

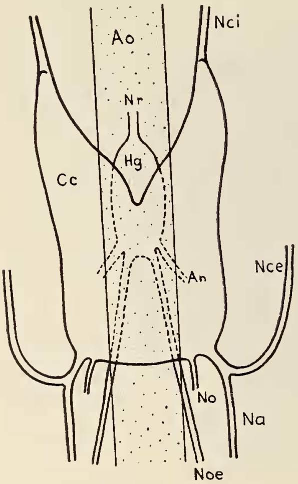


ABB. 4.

Corpus cardiacum (Schema n. CAZAL dargestellt an einer zweitjährigen Larve).

Cc = Corpus cardiacum
Hg = Hypocerebralganglion
Nci = Nervus cardiacus internus
Nce = » » externus
Na = Nervus allatus
No = Nervus aorticus
Noe = » oesophagus
Nr = » recurrens
An = Anastomosen
Ao = Aorta

3. *Das Corpus cardiacum.*

Eine genauere morphologische und histologische Darstellung der Corpora cardiaca bei der Imago von *Sialis* gibt CAZAL 1948. Er nennt diese Organe in seiner Arbeit Corpora paracardiaca, DE LERMA nannte sie bei anderen Insekten Corpi faringei. Ich wählte den von PFLUGFELDER vorgeschlagenen Namen: Corpora cardiaca. Diese Bezeichnung passt für die Mehrzahl der Insekten und ist auch für *Sialis* geeignet.

Die Corpora cardiaca von *Sialis* sind, wie schon erwähnt wurde, in ihrer hinteren Partie miteinander ver-

schmolzen; es ist daher berechtigt, vom Corpus cardiacum zu sprechen. Der rostrale Teil wird von zwei Schenkeln gebildet, von denen aus die beiden Nervi cardiaci interni zum Protocerebrum führen. Dem caudalen Teil entspringen zwei Nervenpaare, median die beiden feinen Nervi aortici, lateral davon je ein Nerv, welcher sich kurz nach seinem Austritt aus dem Corp. cardiacum in zwei Aeste gabelt. Der äussere Ast, der Nervus cardiacus externus, zweigt in einem weiten Bogen rostralwärts ab; der innere Ast, der Nervus allatus, verbindet das Corpus allatum mit dem Corpus cardiacum. Ventral unter dem Corpus cardiacum liegt das Ganglion hypocerebrale; von ihm aus führt der unpaare Nervus recurrens zum Frontalganglion. Zwei Anastomosen verbinden das Corpus cardiacum mit dem Hypocerebralganglion. Caudal entspringen ih die beiden Nervi oesophagi, die sich bis weit hinten erstrecken. Dorsal wird dasCorpus cardiacum von der Aorta überlagert.

Ueber den histologischen Aufbau des Corpus cardiacum orientieren die Abbildungen S. 115 in der Arbeit von Cazal 1948. Meine histologischen Befunde stimmen mit diesen Angaben überein.

4. *Die Corpora allata.*

Die einzigen Autoren, die eine nähere Beschreibung der Corpora allata von *Sialis* geben, sind Hanström (1942) und Cazal (1948). Nach diesen Beschreibungen liegen die paarigen Corpora allata ziemlich weit hinter dem Corpus cardiacum und sind mit je einem langen Nervus allatus mit diesem verbunden. Beide Autoren geben die Verhältnisse bei den Imagines wieder. Nach meinen Untersuchungen gelten die Angaben auch für die Larven von *Sialis*. Eine Lageveränderung während der larvalen und imaginalen Entwicklung konnte nicht festgestellt werden. Im folgenden seien die Verhältnisse bei einer zweitjährigen Larve beschrieben:

Auch bei den Larven liegen die beiden paarigen Corpora allata weit hinten in der Kopfkapsel und sind mit je einem langen Corpus-allatum-Nerven mit dem Corpus cardiacum verbunden. Sie liegen lateral dem Oesophag, wo dieser sich etwas verbreitert und in den Thorax einmündet, eng an. In ihrer Nähe befinden sich stets 2—3 rundliche Pericardialzellen. Die beiden Nervi allati führen dem Oesophag entlang nach vorn. Die Corpora allata haben eine ovoide Form und sind bei den zweitjährigen Larven im Durchmesser ca.

50 μ gross (Abb. 5). Oft liegen die Corpora allata links und rechts vom Oesophag nicht symmetrisch, sondern etwas latero-caudal- oder dorso-ventral-wärts verschoben.

Im histologischen Schnitt (Abb. 6 *a*) sind die beiden Corpora allata zu erkennen (Querschnitt). Während CAZAL die genauere Lage

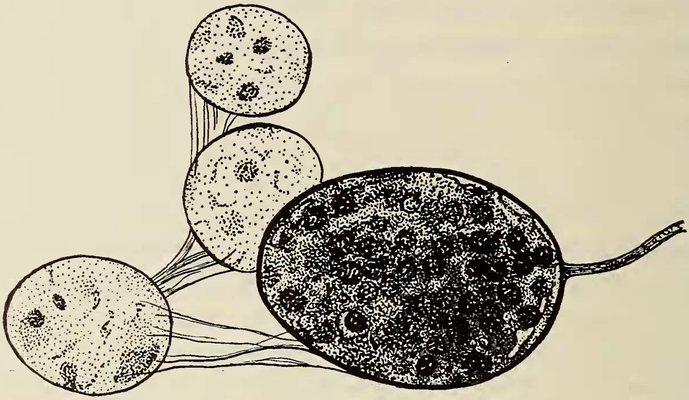


ABB. 5.
Corp. allatum mit 3 Pericardialzellen.
Zeichnung nach Nativpräparaten (Methylenblaufärbung).

als lateral vom Oesophag, aber eher ventral als dorsal angibt, liegen sie auf diesem Schnittbild latero-dorsal.

In Abbildung 6 *b* ist die Struktur des Corpus allatum zu erkennen. Es ist von einer Hüllschicht umgeben und sein Inneres wird von relativ vielen Zellen ausgefüllt, die eng aneinander liegen und nur wenigen kleinen Vacuolen Raum lassen. Diese sind in der Mikrophoto als helle Stellen sichtbar. Eine zentrale, grössere Lacune ist nicht vorhanden. In den Corpus-allatum-Zellen liegen grosse Zellkerne, die mit Chromatinkörnern angefüllt sind. Dorsal vom Corpus allatum ist eine Pericardialzelle im Schnitt getroffen.

B. INKRETORISCHES ORGAN DES THORAX (DIE PROTHORAXDRÜSE).

1. *Lage und Morphologie der Prothoraxdrüse.*

Nach den Ergebnissen der Schnürungsversuche von GEIGY, OCHSÉ und GEIGY und nach meinen eigenen Versuchen schien die Existenz einer Thoraxdrüse wahrscheinlich. Diese Vermutung

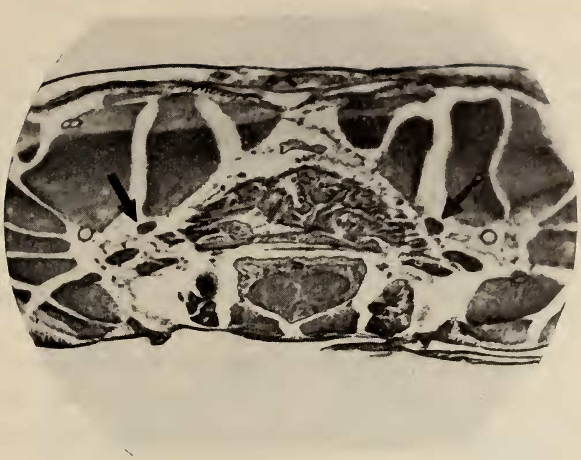


Abb. 6 *a.*

Uebersichtspräparat, Vergr. 70 × ; links und rechts vom Oesophag die beiden Corp. allata (Pfeile).



Abb. 6 *b.*

Corpus allatum, Vergr. 500 ×.

P = Pericardialzelle C = Corp. allatum

wurde unterstützt durch die Befunde anderer Autoren. Als Erste beschrieben Toyama (1902/3) und Ke (1930) Thoraxdrüsen beim Seidenspinner. Fukuda (1940/41/44) konnte durch Transplantation der Drüse zeigen, dass es sich um ein Organ handelt, welches ein Metamorphosehormon sezerniert. Eine gleiche Drüse beschrieb Williams (1947/48) beim grossen Seidenspinner. Im selben Jahr fand Scharrer bei *Leucophaea* ein Organ, das sie ebenfalls als Thoraxdrüse bezeichnete. Deroux-Stralla (1948) gelang es bei *Aeschna cyanea* durch Extirpation der Ventraldrüsen die Metamorphose zu unterdrücken. Bodenstein konnte 1951 als erster experimentell die Existenz einer Thoraxdrüse auch bei Hemitabolen sicherstellen und damit die Befunde Scharrers bestätigen. 1951 gelang es auch Wigglesworth bei *Rhodnius* die Thoraxdrüse nachzuweisen. Bei allen diesen untersuchten Insekten liegt die Drüse im Prothorax.

Geigy und Ochsé (1940) schlossen aus ihren Ergebnissen, die sie durch Schnürung zwischen Thorax und Abdomen erhielten, wobei vorn und hinten Teilverpuppung auftrat, dass das vermutete Organ evtl. auf der Grenze zwischen Thorax und Abdomen liegen könnte. Wie schon erwähnt, hatten die Gangliontransplantationen und -extirpationen, die Ochsé ausführte, keinen Erfolg, und auch ich konnte auf morphologischem Wege an der Thorax-Abdomengrenze kein drüsenähnliches Organ finden. Deshalb suchte ich im Prothorax eine entsprechende Drüse. In der Folge konnte zuerst morphologisch und dann auch histologisch im Prothorax ein Organ, welches weitgehende Uebereinstimmung mit den bei anderen Insekten beschriebenen Prothoraxdrüsen zeigt, gefunden werden. Das zweifellos drüsige Organ ist paarig angelegt und kann mit einiger Uebung ohne Färbung bereits erkannt werden, nachdem das Fettgewebe des Thorax entfernt worden ist. Bei Vitalfärbung mit Methylenblau (0,25%ig) wird durch den Farbkontrast das Organ besser sichtbar. Die Drüse färbt sich leicht blau an und ist als zartes Band zu erkennen.

Abbildung 7 zeigt den Prothorax einer zweitjährigen Larve vom letzten Larvenstadium, dorsal geöffnet und seitlich auseinandergeklappt. In der Mitte liegt das Darmrohr, links und rechts satt anliegend die beiden Nervi oesophagi. Vom Stigma I führen der laterale Tracheenhauptstamm und der dorsale Hauptstamm in den Kopf.

Die beiden Musculi postoccipito antecostalis diagonalis verlaufen in dorso-ventraler Richtung quer durch das Thoraxsegment.

Die Prothoraxdrüse liegt als zartes Organ zwischen den beiden Tracheen. Der Hauptast der Drüse verläuft vom ventralen Tracheenhauptstamm schräg nach hinten zum lateralen Tracheenhauptstamm. Das Organ ist mit beiden Tracheenstämmen fest ver-

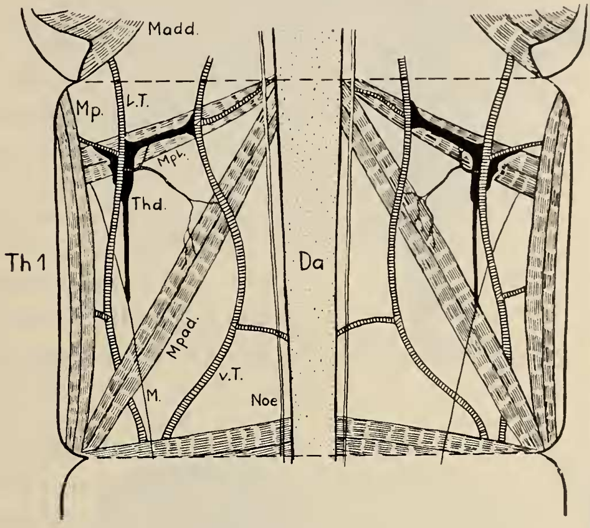


Abb. 7.

Lage der Prothoraxdrüse (Schemazeichnung).

Th 1	= Prothorax	Da	= Darm
Madd	= Musc. adductor mandibularis 1	Noe	= Nervus oesophagus
Mp	= Musc. postoccipito antecostalis horizontalis	lT	= lateraler Tracheenhauptstamm
		vT	= ventraler Tracheenhauptstamm
Mpad	= Musc. postoccipito antecostalis diagonalis	Thd	= Prothoraxdrüse
		M	= feine Muskelfaser
Mpl	= Musc. postoccipito latero tergalis		

bunden. Vom lateralen Tracheenstamm führt ein dorsorostraler, relativ kurzer Ausläufer einer Tracheenabzweigung entlang lateralwärts (evtl. auch von Nerven begleitet). Vom gleichen Punkt aus zieht sich ein feiner, dünner Drüsenast gegen den Musculus postoccipito antecostalis diagonalis caudalwärts hin. Sein Ende ist an einer feinen Muskelfaser befestigt. Dieser Drüsenast ist relativ lang und weist verschiedene Ausbuchtungen auf, die den einzelnen Zellen entsprechen (Vergl. Abb. 7 u. 8).

Bei der herauspräparierten, mit Methylenblau angefärbten Drüse kann bei mikroskopischer Betrachtung bereits die feinere

Struktur erkannt werden (Abb. 8 u. 9 *b*). In der Drüse liegen grosse, ovale Kerne, umgeben von relativ wenig Plasma. Sowohl die Basisstücke an den Tracheen, als auch das Verbindungsstück und die beiden Drüsenäste weisen nur wenige Zellen mit relativ grossen Kernen auf.

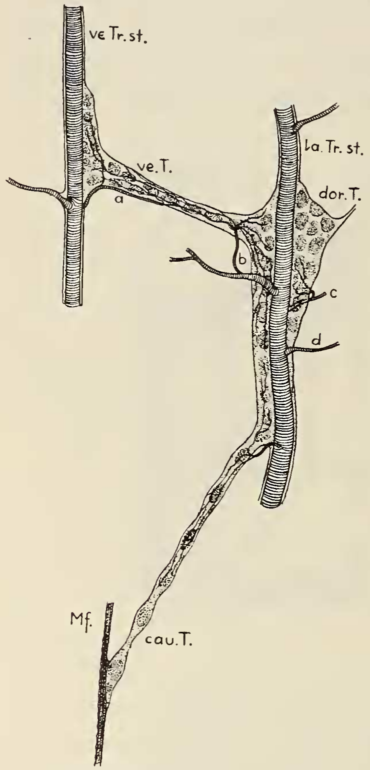


ABB. 8.

Prothoraxdrüse. Zeichnung nach Nativpräparaten. (Methylenblaufärbung.)

dor. T. = dorsaler Teil } d. Prothoraxdrüse
ve. T. = ventrale Teil }
cau. T. = caudaler Teil }
la. Tr. st. = lateraler Tracheenhauptstamm
ve. Tr. st. = ventraler Tracheenhauptstamm
a. b. c. d. = Tracheen, die Prothoraxdrüse versorgend.
Mf. = Muskelfaser

Die Prothoraxdrüse konnte sowohl bei erstjährigen als auch bei zweitjährigen Larven morphologisch nachgewiesen werden. Sie ist also in allen Larvenstadien vorhanden und weist bei zunehmender Grösse dieselbe äussere Struktur auf. Ich fand sie auch noch in Tieren im Puppenstadium, die gerade im Begriff waren, sich zur Imago zu häuten. In jungen Imagines ist die Thoraxdrüse in Degeneration begriffen, im Innern sind keine Kerne mehr zu finden und die Drüse erscheint leicht geschrumpft. In 8 Tage alten Imagines konnten nur noch spärliche Reste der Hüllschicht des Organs festgestellt werden. Leider konnten diese Untersuchungen nur an fixierten Imagines durchgeführt werden.

Tracheenversorgung : Die Thoraxdrüse wird vom lateralen Tracheenhauptstamm durch vier kleinere, abzweigende Tracheen mit Tracheenästchen versorgt (in Abb. 8, Buchstaben *a*, *b*, *c*, *d*). Der Tracheenast *c* versorgt den dorsalen Drüsenteil, die kleine Trachee *b* mit wenigen Tracheolen den caudalen Drüsenast. Weitaus am besten ist der Thoraxdrüsenteil, welcher zwischen den beiden Tracheenhauptstämmen liegt, versehen; über diesen hin zieht sich ein dichtes



Abb. 9 *a*.
Prothoraxdrüse. Vergr. 60 ×.
Vollständig, Nativpräparat, Methylenblaufärbung.

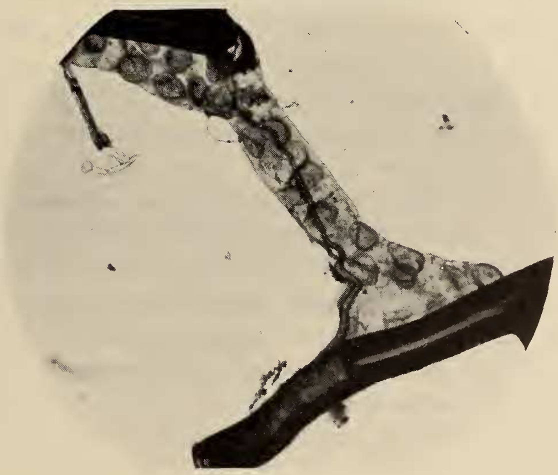


Abb. 9 *b*.
Ventraler Teil. Vergr. 300 ×.
Färbung: Delafield's Haematoxylin.

Geflecht von Tracheolen (conf. Abb. 8, Buchst. *a*, *d*). Ein Teil der Tracheolen stammt aus der Trachee *a*, die dem lateralen Tracheenhauptstamm entspringt, die übrigen Tracheolen zweigen von einer Trachee des ventralen Tracheenhauptstammes ab.

2. *Histologie.*

Das histologische Präparat stammt von einer frisch gehäuteten Larve des 9. Larvenstadiums.

Die Abbildung zeigt einen Schnitt durch den vorderen Prothoraxteil. Links vom Darm ist der laterale und der ventrale Tracheenhauptstamm zu sehen. Von der oberen Trachee erstreckt sich der dorsale Teil der Prothoraxdrüse latero-dorsalwärts. Die einzelnen, grossen Zellkerne sind zu erkennen. Zwischen den beiden Tracheenhauptstämmen ist ein kurzes Stück des ventralen Drüsenteils getroffen, welcher diese beiden Tracheen verbindet. Zwischen dem Darm und der lateralen Trachee liegt Fettgewebe.

In den Schnittserien kann die Prothoraxdrüse über ca. 50 Präparate hin (bei 7 μ Schnittdicke) verfolgt werden. Ich beschreibe die Schnitte in rostro-caudaler Reihenfolge: Auf den ersten Präparaten, die durch den vordersten Teil des Prothorax führen, ist der dorsale Teil der Drüse getroffen. Zwischen den beiden Tracheenhauptstämmen wurde der ventrale Teil, welcher schräg verläuft, auf einer kurzen Strecke angeschnitten. Auf den folgenden Schnitten ist der Drüsenstrang am dorsalen Tracheenstamm sichtbar. Auf den weiteren Präparaten kann der dünne, caudalwärts führende, lang gestreckte Ausläufer der Thoraxdrüse im Querschnitt verfolgt werden. Auf allen Schnitten sind die grossen Zellkerne mit den eingelagerten Chromatinkörnern gut sichtbar. Die Drüse weist im Querschnitt nur eine Zellage auf. In der Flächenausdehnung zeigen der caudale Ast und Teile des Verbindungsstückes ebenfalls nur eine Zellschicht, die den Tracheenstämmen anliegenden Teile dagegen 2—4 Lagen nebeneinander. Auch im cytologischen Bild fällt die relative Plasmaarmut und die Grösse der Kerne dieser Drüse auf.

Ob es sich wirklich um die das Metamorphosehormon ausscheidende Prothoraxdrüse handelt, kann letztlich nur durch das Experiment bewiesen werden. Die beschriebene Drüse weist aber grosse Aehnlichkeit mit den von Toyama, Ke, Fukuda, Lee und

Williams beschriebenen Thoraxdrüsen bei Schmetterlingen auf. Die Aehnlichkeit beruht vor allem auf den grossen Kernen, der relativen Plasmaarmut und der verzweigten Struktur. Auch die

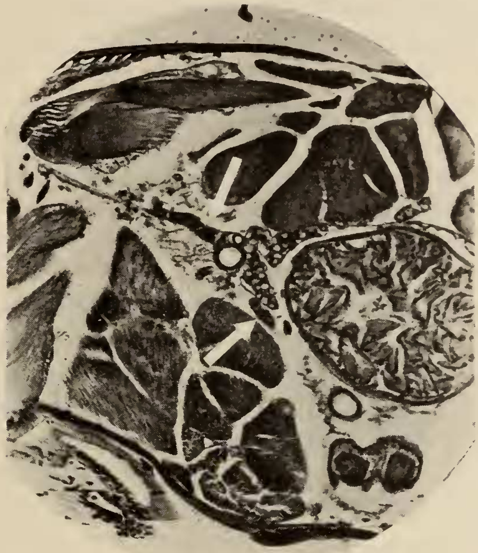


Abb. 10.
Querschnitt durch den Prothorax. Vergr. 120 ×.
Färbung: Delafield's Eisen-Haematoxylin
Prothoraxdrüse durch weisse Pfeile markiert.

Lage unmittelbar an den Tracheen des Prothorax stimmt mit den Verhältnissen bei den Schmetterlingen überein.

Für das Verständnis der im folgenden experimentellen Teil dargestellten Versuche ist eine kurze Uebersicht über die bisher von anderen Autoren erhaltenen Ergebnisse am Platze.

Durch Ausschalten des Gehirns mittels Kopfschnürung und Extirpationen konnte bei Lepidopteren-Raupen und einigen hemimetabolen Insektenlarven eine « kritische Periode » vor jeder Häutung festgelegt werden. Während dieser Periode gibt das Gehirn seinen Wirkstoff ab. Durch Cerebrumimplantationen konnte die stoffliche Natur dieses Gehirnwirkstoffes festgestellt werden. Dieser Reiz von Cerebrum wirkt auf ein zweites Centrum ein, das bei den Lepidopteren im Thorax, bei anderen Insekten im Kopf-

Thorax Gebiet liegt. In diesen Körperregionen konnten Organe nachgewiesen werden, die als Wirkstoffzentrum in Frage kommen, z. B. bei Lepidopteren und Orthopteren die Thoraxdrüsen, bei *Aeschna* und *Dixippus* die Ventraldrüsen. Bei einigen wenigen Insekten gelang es experimentell zu bestätigen, dass diese Drüsen das Metamorphosehormon produzieren. Andererseits fand man im Kopf der Insekten die Corpora allata, welche ein sogenanntes Juvenil- oder Larvenhäutungs-hormon produzieren, das die Metamorphose hemmt, d.h. die Larvenhäutungen bewirkt. Werden die Corpora allata ausgeschaltet, so tritt eine frühzeitige Verwandlung ein. Die Rolle des Corpus cardiacum ist bis jetzt noch wenig untersucht worden.

II. EXPERIMENTELLER TEIL

Die Versuche sind von 1—22 fortlaufend nummeriert. Sie stellen eine Auswahl der durchgeführten Serien dar. Die hier nicht erwähnten Versuche bestätigen lediglich die dargestellten Ergebnisse. Die experimentellen Untersuchungen wurden an insgesamt 2300 Tieren durchgeführt, die für die Morphologie und Histologie verwendeten Tiere nicht eingerechnet.

Die für *Sialis* charakteristischen 7 Paar abdominalen Tracheenkiemen sind von Geigy (1937) und Ochsé (1944) bereits eingehend beschrieben worden. Für die vorliegenden Experimente ist lediglich ihr Verhalten während der Metamorphose von Bedeutung. Bei beginnender Metamorphose wird der lebende Inhalt der Kiemen retrahiert und durch Phagocytose abgebaut. Diese Kiemenretraktion beginnt an den hinteren Kiemen etwas früher, schreitet dann aber an allen 7 Paaren regelmässig weiter fort bis zur vollständigen Retraktion und der Bildung des Retraktionsstummels. Für nähere Details verweise ich auf die Arbeit von Ochsé (1944). Diese Retraktion ist, wie schon erwähnt, als sicheres Anzeichen beginnender Metamorphose zu werten. In allen hier beschriebenen Versuchen wird die Rückbildung des lebenden Inhaltes der Kiemen kurz als Kiemenretraktion bezeichnet. In den Tabellen bedeuten ausgefüllte Zeichen Metamorphose, weisse, nicht ausgefüllte hingegen Larvenhäutungen. Massgebend für die Zeiteintragungen war jeweils der Tag der vollständigen Retraktion. Als unvollkommene Retraktion werden die Fälle bezeichnet, bei denen der Abbau des

Inhaltes an allen Kiemen normal begann, aber von einem gewissen Retraktionsstadium an nicht mehr weiter fortschritt, oder die Larven zu diesem Zeitpunkt eingingen. Bei atypischer Kiemenretraktion begannen nur einzelne Kiemen mit der Rückbildung ihres Inhaltes und führten sie nicht zu Ende; die Retraktion kam dann auf verschieden weit fortgeschrittenen Stadien zum Stillstand.

A. Schnürungen.

a) *Kopfschnürungen.*

Die Kopfschnürungen an erstjährigen Larven wurden mit einem dünnen Nylonfaden, die an zweitjährigen Larven mit einem feinen Baumwollfaden ausgeführt. Durch diese Kopfschnürungen werden die innersekretorischen Organe des Kopfes, d. h. das Cerebrum, das Corpus cardiacum und die Corpora allata ausgeschaltet. Dadurch wird eine eventuelle stoffliche Wirkung auf den übrigen Körper verunmöglicht. Die Versuchstiere wurden in Wasser, dem einige Tropfen Aether beigefügt war, leicht narkotisiert; nach der Operation kamen sie in frisches Leitungswasser. Todesfälle traten meist auf, weil durch die Ligatur die Haut am ersten Thoraxsegment etwas beschädigt wurde, so dass sich hier Infektionsherde bilden konnten. Es zeigte sich, dass die Operation im allgemeinen desto schlechter ertragen wird, je jünger das Larvenstadium ist.

Die Erfahrung hat gezeigt, dass vor dem 10. Tag nach Kopfschnürung keine Metamorphose zu erwarten ist. Da deshalb über das Metamorphoseverhalten aller Individuen, die nach der Operation den 10. Tag nicht erreichten, nichts ausgesagt werden kann, schien es angezeigt, prinzipiell diejenigen Tiere, die vorher eingingen, in der Statistik nicht zu berücksichtigen. Dies gilt für alle Kopfschnürungsversuche.

Als erstjährige Larven werden laut unseren früheren Angaben die Tiere bis zum 7. Stadium bezeichnet, d.h. bis zum März des zweiten Jahres.

1. *An erstjährigen Larven.*

Versuch 1. Serie gA 1-19.

Die Tiere wurden am 21. Juli im See gefangen und am 23. Juli kopfgeschnürt. Ihre durchschnittliche Länge betrug 6 mm (ent-

sprechend ca. Stadium 3). Nach der Schnürung traten keine Larvenhäutungen mehr auf. 7 der 19 Versuchstiere starben vor dem 10. Tag nach der Operation. Am 13. Tag p. Op. wies die erste Larve eine Kiemenretraktion auf. Am 15. und 18. Tag retrahierten zwei weitere Larven ihren Kiemeninhalt. Die übrigen 9 Individuen konnten z. T. bis zu 30 Tagen nach der Schnürung beobachtet werden, zeigten aber keine Metamorphoseanzeichen. (Eine Larve zeigte eine unvollkommene Retraktion.)

Ein Individuum entwickelte sich auf der Watte gut weiter. Die Larve konnte sich aber nicht selbständig von der Cuticula

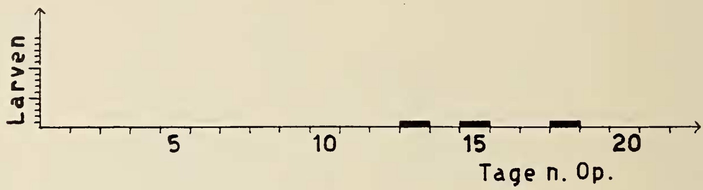


Abb. 11.

befreien; es gelang jedoch noch am lebenden Tier die Larvenhaut mit der Pinzette wegzutrennen. Der darunter liegende Puppenkörper war vollständig ausgebildet. Die Länge betrug ohne Kopf 4,5 mm. Leider ging diese Puppe nach 24 Stunden ein.

Keine Metamorphoseanzeichen . . .	8	=	66,6%
Kiemenretraktion unvollkommen . .	1	=	8,4%
Einsetzen der Metamorphose	3	=	25,0%

Die Larve mit unvollkommener Kiemenretraktion begann sich 11 Tage p. Op. zu verwandeln. Die Retraktion schritt aber bei allen Kiemen nur bis zum 4. Glied fort und blieb auf diesem Stadium stehen, bis das Tier nach 20 Tagen einging.

Versuch 2. Serie hA 1-27.

Die am 21. August im See gefangenen Tiere hatten eine durchschnittliche Länge von 8—9 mm (Stadium 4). Am 22. August wurden die Kopfschnürungen vorgenommen. 4 Tage nach der Operation trat bei einem Individuum eine Larvenhäutung auf. Das Tier konnte sich aber nur am Abdomen von der Larvencuticula befreien. 8 Tage nach der Häutung ging die Larve ein, ohne dass

der Thorax von der Larvenhaut befreit werden konnte. Im übrigen traten keine Larvenhäutungen mehr auf.

Am 15. Tag nach der Kopfschnürung verwandelte sich die erste Larve. Im Verlaufe der nächsten 10 Tage retrahierten noch weitere 5 Tiere die Kiemen und den Schwanzfaden. Bei 4 Tieren war nach 2 Tagen die Larvencuticula leicht abgehoben und die



Abb. 12.
Puppe hA 22, 5 Tage nach vollkommener Kiemenretraktion; Larvenhaut entfernt. Vergleichsobjekt normale Puppe (fixiertes Tier).

Puppencuticula sowie die Flügelanlagen waren zu erkennen. Alle Individuen gingen ein, ohne dass sie sich von der Larvenhaut zu befreien vermochten. Bei Versuchstier hA 22 konnte sie nach dem Tode mit der Pinzette gut entfernt werden. Die beiden Flügelpaare sind normal gestaltet oder stark gefaltet, die Flügeladern erkennbar. Das Abdomen ist bereits etwas bräunlich pigmentiert, die Beborstung ist wie bei den normalen Puppen ausgebildet. Die Länge der Larve ohne Kopf beträgt 5 mm.

Die übrigen Versuchstiere, bei denen keine Metamorphoseanzeichen auftraten, gingen in der Zeitspanne von 27 Tagen nach der Operation ein. 8 Individuen starben vor dem 10. Tag p. Op. Zwei Tiere wiesen eine unvollkommene Retraktion auf.

Keine Metamorphoseanzeichen . . .	11	=	58,0%
Kiemenretraktion unvollkommen . .	2	=	10,5%
Einsetzen der Metamorphose	6	=	31,5%

Versuch 3. Serie aA 1-102.

Die Mitte August 1950 gefangenen, durchschnittlich 8 mm langen (Stadium 4) Tiere wurden ca. 3—4 Tage nach dem Einbringen geschnürt. Auch in dieser Serie gab es einen grossen Ausfall an Tieren in den ersten 10 Tagen nach der Operation; von den 102 geschnürten Tieren starben in dieser Zeitspanne 29. 7 Tiere

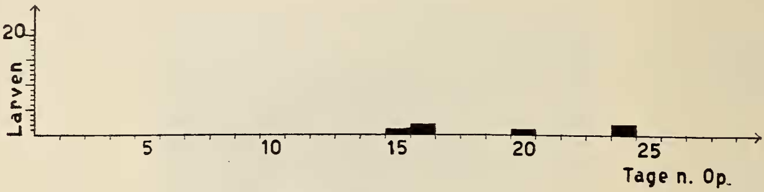


Abb. 13.

machten nach der Schnürung noch eine Larvenhäutung durch, welche am 4. und 5. Tage p. Op. auftrat. Spätere Häutungen gab es keine. Am 15. Tage nach der Schnürung zeigte die erste Larve Metamorphoseanzeichen. Im Verlauf der folgenden 20 Tage verwandelten sich noch weitere 8 Tiere.

Keine Metamorphoseanzeichen . . .	46 = 69,7%
Kiemenretraktion unvollkommen . .	11 = 16,7%
Einsetzen der Metamorphose	9 = 13,6%

11 Tiere zeigten eine unvollkommene Kiemenretraktion. Einige starben währenddem die Retraktion im Gange war, bei andern wurde der Retraktionsablauf unterbrochen, ohne fortzuschreiten, auch wenn die Larven weiterlebten. Diejenigen Tiere, die eine vollkommene Kiemenretraktion aufwiesen, starben entweder auf dem Metamorphosestadium, oder die Verwandlung ging weiter bis zum Puppenstadium. Auch hier konnte sich keine der Puppen von der Larvencuticula befreien und sie gingen infolgedessen ein. In diesem Versuch sind also alle Varianten des Metamorphoseablaufes, von unvollkommener Metamorphose bis Puppenstadium, vertreten. Diese Ergebnisse werden später analysiert (S. 202).

Kontrollen zu Versuch 3.

Als Kontrollen zu dieser Schnürungsserie wurden Larven des gleichen Fanges unter gleichen Bedingungen gehalten. Da die

geschnürten Tiere keine Nahrung aufnehmen konnten, wurden auch die Kontrollen während der Versuchsdauer nicht gefüttert. Auch bei diesen Tieren war ein grosser Ausfall festzustellen. Diese frühen Larvenstadien erweisen sich im Laboratorium als weniger lebensfähig als die späteren Stadien; eine Beobachtung, die schon Du Bois u. Geigy (1935) machen konnten. Von den 30 Kontroll-

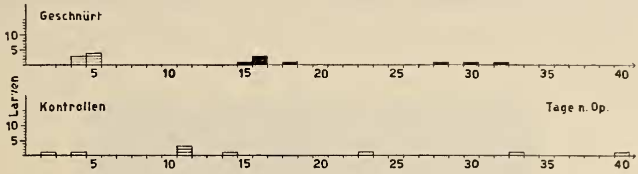


Abb. 14.

tieren starben 7 Larven, 9 Larven häuteten sich im Verlauf der Versuchsdauer (vergleiche Schema).

Aus dem Vergleich der beiden Schemata geht deutlich hervor, dass es sich bei den Puppenhäutungen der geschnürten Tiere um umgewandelte Larvenhäutungen handelt. Diese Reaktion wurde durch die Ausschaltung des Kopfes und damit der Corp. allata provoziert.

Versuch 4. Serie dA 1—26 (1950).

Die Larven wurden am 10. Dezember gefangen, ihre durchschnittliche Länge betrug 11,5 mm (Stad. 6). Von den 26 Tieren gingen 4 vor dem 10. Tage p. Op. ein. Erst 20 Tage nach der Schnürung war bei der ersten Larve eine totale Kiemenretraktion zu erkennen. Während der folgenden 12 Tage begannen weitere 5 Tiere mit der Metamorphose. Vergleicht man die Zeit der Metamorphoseeintritte dieser Serie mit den übrigen Versuchen, so zeigt sich eine Verschiebung von 5—10 Tagen nach rechts. Diese Larven brauchten also länger, bis ihr Reaktionssystem auf die erfolgte Schnürung antwortete. Erklärung siehe Versuch 5.

Keine Metamorphoseanzeichen . . .	14 = 63,6%
Kiemenretraktion unvollkommen . .	2 = 9,1%
Einsetzen der Metamorphose	6 = 27,3%

Auch in dieser Serie zeigten 14 Tiere, die während 50 Tagen kontrolliert werden konnten, keine Metamorphose. Nach der

Schnürung traten in diesem Versuch keine Häutungen mehr auf. Die in Metamorphose begriffenen Tiere starben alle im Puppenstadium. Bei den beiden Larven mit unvollkommener Kiemenretraktion handelt es sich um atypische Reaktionen, die nur an einigen Kiemen auftraten.

Als Vergleichsversuch wurden Larven desselben Fanges auf dieselbe Weise geschnürt, aber statt in Zimmertemperatur weiter

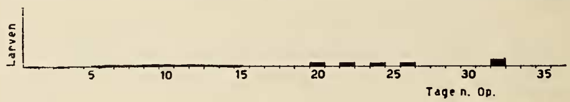


Abb. 15.

in der Kälte bei 4° C gehalten. Bei keiner einzigen dieser 30, während eines Monats kontrollierten Larven, trat eine Metamorphose ein. Der Aufenthalt in Zimmertemperatur ist also notwendig, um das Metamorphosezentrum in Aktion zu bringen. Von den durch die Wärme beeinflussten Larven antworten nur diejenigen mit einer Verwandlung, welche den Stimulus vom Cerebrum bereits vor der Schnürung erhalten haben (s. später). Dieses Resultat wird dadurch gestützt, dass einige der geschnürten Larven, die in der Kälte verblieben, ebenfalls metamorphosierten, als sie nach einem Monat in Zimmertemperatur gebracht wurden.

Versuch 5. Serie dA 1—96 (1951).

Die Tiere dieser Versuchsserie wurden im März 1951 im See gefangen. Ihre durchschnittliche Länge betrug 11—12 mm, also

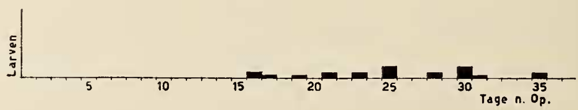


Abb. 16.

Stadien relativ gering. Die Larven sind bedeutend widerstandsfähiger geworden. Am 16. Tag p. Op. wies das erste Tier eine totale Kiemenretraktion auf. In den folgenden 20 Tagen setzte bei weiteren 20 Tieren die Metamorphose ein. Bei den Kontrollen 6.—7. Larvenstadium. Vor dem 10. Tag nach Versuchsbeginn gingen 12 Tiere ein. Der Prozentsatz ist verglichen mit dem jüngerer

häuteten sich in dieser Zeit ungefähr gleich viele Larven, ohne dass eine Metamorphose eintrat.

Keine Metamorphoseanzeichen . . .	59 =	70,3%
Kiemenretraktion unvollkommen . .	4 =	4,7%
Einsetzen der Metamorphose	21 =	25,0%

Diejenigen Tiere, die keine Metamorphoseanzeichen aufwiesen, konnten z. T. bis 45 Tage p. Op. beobachtet werden. Sie starben an

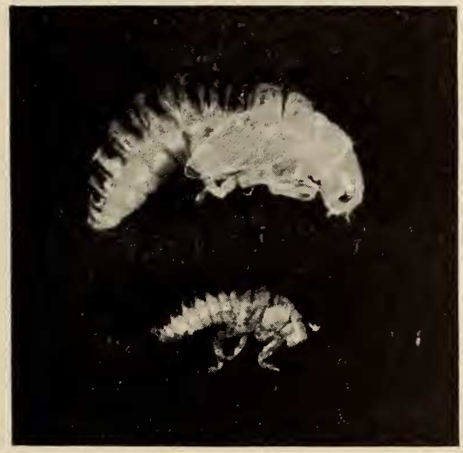


Abb. 17.
Puppe dA 57, kurz nach Entfernung der Larvencuticula, noch kein bräunliches Pigment.
Normale, frisch geschlüpfte Puppe.

Pilzbefall oder wegen sonstiger Allgemeinschädigungen infolge Nahrungsmangels.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass in dieser Versuchsreihe der Zeitpunkt der Metamorphose — wie in Versuch 4 — um etwa 5—10 Tage verschoben ist. Während bei den übrigen Versuchsreihen zwischen dem 15. und 20. Tage eine Häufung der Metamorphosen bemerkbar ist, liegt hier die Häufung zwischen dem 25. und 30. Tage nach der Schnürung. Dieses Phänomen kann mit der winterlichen Abkühlung des Sees in Zusammenhang gebracht werden, da die Tiere von Versuch 4 und 5 während des Winters gefangen wurden. Das Reaktionssystem im Körper ist durch die

lang andauernde, niedere Seetemperatur etwas gehemmt, was sich dann auf den Metamorphosebeginn auswirkt. Dass aber auch in dieser Jahreszeit (März) Häutungen auftreten, und durch Kopfschnürungen eine Metamorphose herbeigeführt werden kann, zeigt, dass das innersekretorische System aktiv ist. Als Beispiel sei die Entwicklung der abgebildeten, kleinen Puppe beschrieben:

26. Tag p. Op. totale Kiemenretraktion an den hinteren 4 Kiemenpaaren, die 3 vorderen noch nicht vollständig retrahiert. Auf feuchte Watte gelegt.

29. Tag p. Op. Larvencuticula etwas abgehoben, Flügelanlagen sichtbar.

32. Tag p. Op. Abdomen selbständig von der Cuticula befreit, Larvenhaut vom Thorax und den Extremitäten mit der Pinzette entfernt. Am abgeschnürten Prothoraxsegment hat sich durch die Puppencuticula ein guter Wundverschluss gebildet. Die Flügel sind vollständig, aber stark gefaltet und geschrumpft.

36. Tag p. Op. Beine bräunlich verfärbt, Puppe reagiert nur schwach auf Berührungsreiz.

43. Tag p. Op. tot.

2. *An zweitjährigen Larven.*

Versuch 6. Serie 9000—9105.

Bei diesen Versuchstieren handelt es sich um zweitjährige Larven des Stadiums 8, die im Mai im See gefangen wurden. Von den 105 Versuchstieren starben 34 infolge Pilzbefalls und anderer Infektionen vor dem 10. Tag p. Op. Die ersten totalen Kiemenretraktionen waren am 10. Tag nach der Schnürung zu beobachten. In den nächsten 10 Tagen häufte sich das Eintreten der Metamorphose, um dann gegen den 21. Tag wieder abzusinken. (Siehe Abb. 19.) Nur 8 Tiere zeigten nach diesem Zeitpunkt noch keine Metamorphoseanzeichen.

Keine Metamorphoseanzeichen	8	= 11,3%
Kiemenretraktion unvollkommen . .	12	= 16,9%
Einsetzen der Metamorphose	51	= 71,8%

Auf feuchter Watte entwickelten sich die meisten Larven nach beendigter Tracheenretraktion weiter. Wenn also die kopfgeschnür-

ten Tiere das Stadium der normalen, totalen Retraktion des Kiemen- und des Schwanzfadeninhaltes erreicht haben, so kommt in allen Fällen auch ihre weitere Ausbildung zur Puppe in Gang. Zumindest wird die Larvencuticula abgehoben und die Flügelanlagen sind sichtbar. Die meisten Larven gingen jedoch auf diesem Entwicklungsstadium infolge Infektionen zu Grunde, da sie sich nicht von der Larvencuticula zu befreien vermochten. Durch die Ausschaltung des Cerebrums wird vor allem die Beweglichkeit der Extremitäten gestört, so dass dieselben beim Abwerfen der Cuticula nicht mehr mitwirken können. Auch die bei den normalen Tieren typischen Zuckbewegungen des ganzen Körpers bei der Häutung fehlen bei den geschnürten Individuen. Dies gilt auch für die erstjährigen Larven, kann aber bei den grösseren zweitjährigen besser beobachtet werden. Nur das Abdomen kann sich in günstigen Fällen der Larvencuticula durch rhythmische Bewegungen entledigen. Ein einziges Tier vermochte sich selbständig von der Larvenhaut zu befreien und ergab eine schöne Puppe, deren Puppencuticula mit der Pinzette entfernt werden konnte. Darunter hatte sich eine Imago ausdifferenziert, welche in einer Mitteilung von Geigy u. Rahm 1951 abgebildet und beschrieben wurde.

Bei den übrigen Tieren, unter deren Larvencuticula eine Puppe ausgebildet war, konnte die Larvenhaut mit der Pinzette meist gut entfernt werden. An der Schnürstelle bildet sich jeweils durch die Puppenhaut, wie das schon bei den erstjährigen Larven erwähnt wurde, ein Wundverschluss, der an den älteren Larvenstadien besonders gut zu erkennen ist. Dieser Wundverschluss ist nur vollständig, wenn bei der Kopfschnürung durch die Ligatur das Darmrohr auch entzweigetrennt wird. In Abb. 18 ist bei No. 9036 und 9097 die Abkapselung des Darmrohres sichtbar. In den meisten Fällen bleibt aber eine Darmverbindung mit dem Kopf bestehen, welche beim Entfernen der Larvenhaut zerrissen wird und eine Wundöffnung in der Puppencuticula verursacht. Diese Oeffnung war dann auch meist der Herd der auftretenden Infektionen.

Die Färbung der Körper und die Beborstung sind normal. Je nach dem Zeitpunkt, in dem die Tiere eingingen, sind die Flügel bereits mehr oder weniger gut ausgebildet. Bei älteren Individuen ist die Flügeläderung gut zu erkennen und oft kann sogar eine Beborstung beobachtet werden. (Abb. 18.)

Neben diesen Larven mit normaler, vollkommener Kiemenretraktion waren auch, wie in allen übrigen Versuchsserien, immer Tiere zu finden, die nur ein Stadium der unvollkommenen Kiemenretraktion erreichten. Im vorliegenden Fall waren es 12 Tiere. Oft gingen die Larven, nachdem die Retraktion auf dem unvollkommenen Stadium stehen geblieben war, nach einigen Tagen ein.

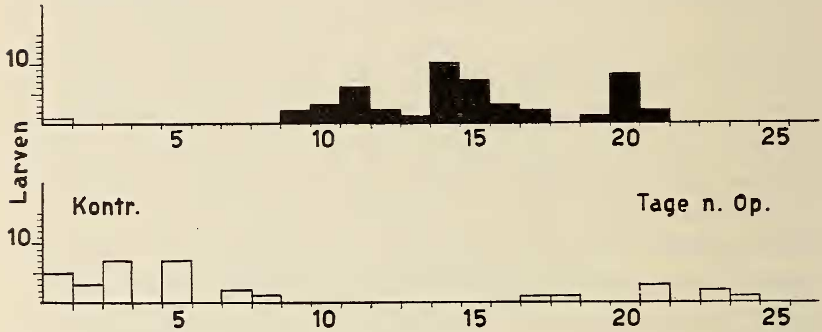


Abb. 19.

Kontrollen zu Versuch 6.

Als Kontrollen dienten 84 Larven aus dem gleichen Fang, die unter den gleichen Bedingungen wie die Versuchstiere gehalten wurden (keine Nahrung). Erwartungsgemäss waren bei diesen Tieren keine Metamorphoseanzeichen zu sehen. In der gleichen Beobachtungszeit von 30 Tagen trat bei insgesamt 35 Larven eine Larvenhäutung auf, während sich bei den Versuchstieren nur eine Larve am ersten Tag nach der Schnürung häutete. Die Häufung der Häutungen in den ersten Tagen nach Versuchsbeginn ist dadurch zu erklären, dass die Tiere aus der Kälte in die Wärme gebracht und dadurch die Häutungen schneller provoziert werden. Auch Ochsé (1944) beschreibt dieses Phänomen. Die vielen Larvenhäutungen der Kontrollen aber weisen darauf hin, dass es sich bei den Metamorphosen der Versuchstiere um abgewandelte Larvenhäutungen handelt. Die Corpora allata konnten der Häutung keine larvale Prägung mehr geben. Das Reaktionssystem des Körpers braucht aber mindestens 10—15 Tage um mit einer Metamorphose antworten zu können.

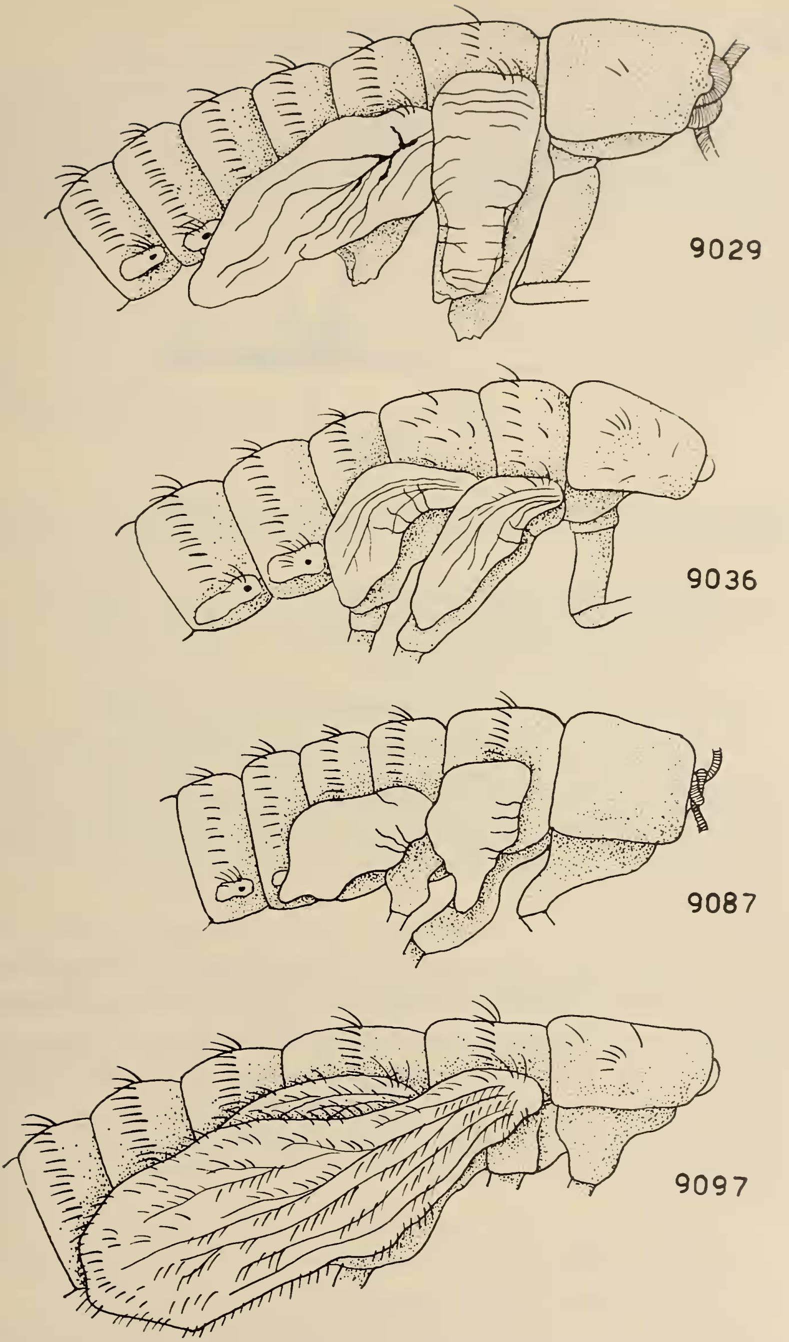


ABB. 18. — Verschiedene Puppenstadien aus Versuch 6.

No. 9029 7 Tage nach vollk. Kiemenretr. Vorderflügel von Larvencuticula bedeckt.
No. 9036 5 Tage nach vollk. Kiemenretraktion.
No. 9087 6 Tage nach vollk. Kiemenretr. Beide Flügel noch mit Larvencuticula.
No. 9097 10 Tage nach vollk. Kiemenretraktion.

V e r s u c h 7. Serie aD 1—40.

Fang der Larven am 8. August. Durchschnittliche Länge der 40 Tiere: 14—15 mm (Stad. 9). Diese geschnürten Larven vom 9. Stadium zeigten in Bezug auf das Auftreten der Metamorphose

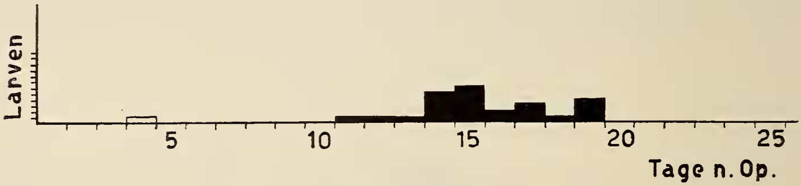


Abb. 20.

gleiches Verhalten wie die Larven des 8. Stadiums im vorhergehenden Versuch.

Keine Metamorphoseanzeichen	5 = 14,3%
Kiemenretraktion unvollkommen . . .	5 = 14,3%
Einsetzen der Metamorphose	25 = 71,4%

Eine Larve häutete sich 4 Tage nach der Schnürung.

Auch in dieser Serie konzentrierte sich das Auftreten der totalen Kiemenretraktion auf den 15. Tag nach der Schnürung. Bei den Kontrollen traten wie im vorhergehenden Versuch weiter normale Larvenhäutungen auf. Das Resultat ist also analog demjenigen von Versuch 6.

V e r s u c h 8. Serie bJ 1—40.

In diesem Versuch wurden Larven des letzten, 10. Stadiums, die sich in Winterdiapause befanden, in der Kälte kopfgeschnürt und sofort in Zimmertemperatur gebracht. Wie an Hand der Resultate der früheren Versuche zu erwarten war, setzte auch bei diesen Tieren vom 13. Tag an die Metamorphose ein. Von allen Versuchen zeigte diese Serie den weitaus grössten Prozentsatz metamorphosierender Tiere.

Keine Metamorphoseanzeichen	1 = 2,5%
Kiemenretraktion unvollkommen . . .	4 = 10%
Einsetzen der Metamorphose	35 = 87,5%

Vor allem ist zu bemerken, dass sich die Diapauselarven trotz der Ausschaltung des Gehirns verwandeln können. Dies lässt den

Schluss zu, dass das Metamorphosezentrum im Thorax bereits vor der Diapause vom Gehirn aktiviert worden sein muss. Der hohe Prozentsatz der metamorphosefähigen Larven kann dadurch ebenfalls erklärt werden. Die 4 Tiere, bei welchen eine unvollkommene Kiemenretraktion zu verzeichnen war, gingen alle auf diesem

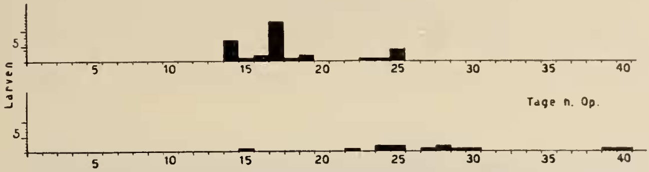


Abb. 21.

Stadium ein, so dass auch bei ihnen noch eine Metamorphose hätte auftreten können.

Interessant ist nun der Vergleich mit den Kontrolltieren, die ohne Kopfschnürung, in gleicher Weise wie die Versuchstiere gehalten wurden. Von den 30 Kontrolltieren zeigten:

Einsetzen der Metamorphose	 20	= 66,6%
Keine Metamorphoseanzeichen	 10	= 33,3%

Der Eintritt der jeweiligen Kiemenretraktionen konzentrierte sich nicht auf bestimmte Tage, wie bei den Versuchstieren, sondern erstreckte sich über die ganze Dauer des 60 tägigen Versuches. Wie bereits in der Mitteilung von Geigy u. Rahm dargelegt wurde, kann diese Diskrepanz nur durch eine Wirkung der Corp. all. erklärt werden. Nach den Arbeiten von Piepho (1941) und Kaiser (1949) zeigen die Corp. all. bei den von ihnen untersuchten Tieren auch im letzten Larvenstadium noch eine sekretorische Tätigkeit. Wahrscheinlich wird durch eine solche Aktivität bei *Sialis* die Metamorphose verzögert oder sogar unterbunden. Durch die Kopfschnürung hingegen wird die Wirkung der Corp. allata im Organismus verhindert und dieser gewissermassen für die Metamorphose freigegeben.

Versuch 9. Serie aJ 1—40.

Fangdaten, Larvenstadien und Schnürungsmethode entsprechen Versuch 8. Die Larven wurden aber nach erfolgter Kopfschnürung weiter in der Kälte bei 4° C gezüchtet und nicht in Zimmertempe-

ratur gebracht. Während des Aufenthaltes in der Kälte zeigte keine einzige Larve eine Kiemenretraktion. Nach 35 Tagen Versuchsdauer wurden 20 der 40 Versuchstiere in Zimmertemperatur verbracht. Hier setzte bereits nach 7 Tagen bei einigen Tieren die Metamorphose ein. Die 20 Individuen, die in der Kälte verblieben, wiesen weiterhin keine Reaktion auf. Nach weiteren 10 Tagen wurden auch sie in Zimmertemperatur verbracht und zeigten sogar

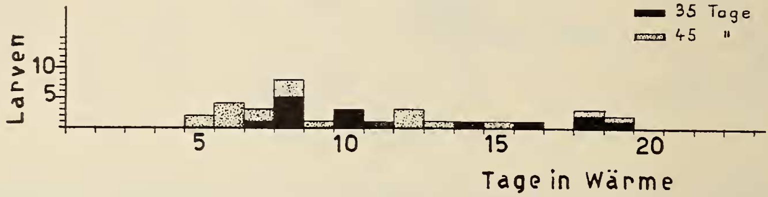


Abb. 22.

schon nach 5—6 Tagen Aufenthalt in der Wärme eine totale Kiemenretraktion.

Dieses Resultat kann damit erklärt werden, dass während des Aufenthaltes dieser kopfgeschnürten Larven in der Kälte das sich noch im Körper befindliche Corp. all.-Hormon eliminiert werden konnte. Neuer Corp. all.-Wirkstoff gelangte nicht in den Körper. Dadurch war es auch dem Metamorphosehormon möglich, rascher zur Wirkung zu gelangen.

Versuch 10. Serie bL 1—10.

Die folgende Versuchsserie wurde lediglich als Kontrolle zu den Kopfschnürungen durchgeführt; vor allem um sicher zu sein, dass durch die Ligatur jegliche stoffliche Verbindung zwischen Kopf und Thorax unterbrochen wird.

Larven vom Stadium 8 wurde mit einem feinen Skalpell der Kopf vom Rumpf getrennt. Die Thoraxwundstelle wurde dann sofort auf ein paraffiniertes Deckglas gepresst, ringsum mit Paraffin festgeklebt und luftdicht abgeschlossen. Das Resultat sollte also bei Gelingen des Versuchs dasselbe sein, wie bei einer Kopfschnürung. Von den 10 Versuchstieren gingen 6 vor dem 10. Tage p. Op. ein, eine Larve starb nach dem 10. Tag ohne Kiemenretraktion aufzuweisen, 3 Larven metamorphosierten ca. 15 Tage p. Op. Von diesen 3 Tieren konnte eine Larve bis zur Puppenhäutung verfolgt werden.

Abb. 23 zeigt dieses Tier, nachdem die Larvencuticula mit der Pinzette entfernt wurde.

Das positive Resultat bestätigt, dass eine Kopfschnürung einer totalen Abtrennung des Kopfes gleichkommt.

Schlussfolgerungen aus den Kopfschnürungen.

Vergleicht man die Versuchsserien der insgesamt 495 Kopfschnürungen, so fallen folgende übereinstimmende Resultate auf:



Abb. 23.
Ausgebildete Puppe, Larvencuticula mit Pinzette entfernt.
An der Vorderextremität Larvenhaut noch sichtbar.

Bei allen Larven vom 3.—10. Stadium wird durch die Kopfschnürung die normale Weiterentwicklung der Larven unterbrochen, d. h. die noch zu durchlaufenden Larvenstadien und Häutungen fallen aus. Ein gewisser Prozentsatz der geschnürten Larven beginnt sogar mit der Metamorphose und der Verwandlung zur Puppe. Dieser Metamorphosebeginn konnte experimentell sogar schon im 4. Larvenstadium erzeugt werden. Ob eine Verwandlung nach Kopfschnürung auch in den ersten drei Larvenstadien möglich wäre, konnte wegen der fehlenden erfolgreichen Aufzuchtmöglichkeiten nicht nachgeprüft werden. Es darf aber angenommen werden, dass dies auch bei diesen Stadien der Fall sein würde.

Durch die Ausschaltung des Kopfes wird dasjenige System, welches die normalen Larvenhäutungen bewirkt, eliminiert und als Folge tritt die Metamorphose ein (Vergl. S. 192). Folgende Ergebnisse dürften besonders interessieren: In allen Versuchen setzt die Kiemenretraktion bei den ersten Tieren frühestens am 10. Tage nach der Kopfschnürung ein. Eine Anhäufung ist oft um den 15.—18. Tag zu beobachten. Nie trat nach dem 35. Tag p. Op. eine Metamorphose auf. Larvenhäutungen konnten nach der Schnürung nur bis zum 5. Tag beobachtet werden (vergl. S. 226 ff.).

In Analogie zu Versuchen anderer Autoren, Bounhiol (1937/38/44), Wigglesworth (1934/35/36/47), Pflugfelder (1937 *a*, 1937 *b*, 1938/39), Piepho (1939, 1940, 1943, 1946, 1948), Fukuda (1940), wurde angenommen, dass auch bei *Sialis* die im Kopf liegenden Corp. all. für das Zustandekommen der Larvenhäutungen verantwortlich gemacht werden können. Diese Vermutung wurde dann auch durch die Extirpationsexperimente bestätigt.

Können die Corp. all. ihr Larvenhäutungshormon noch vor der Schnürung in den Körper abgeben, so findet nach der Kopfligatur noch eine Larvenhäutung statt. Die „kritische Periode“ der Sekretionstätigkeit des Corp. all. muss 5 Tage vor einer Larvenhäutung liegen. Zu diesem Zeitpunkt würde demnach die Ausschüttung des Larvenhäutungs-Hormons stattfinden.

Andererseits wird erst kurz vor dem 13. Tag nach der Schnürung diejenige Hormonmenge der Thoraxdrüse erreicht, die nötig ist, um eine Kiemenretraktion und damit die Metamorphose in Gang zu bringen. Dass sich nicht alle Larven nach erfolgter Kopfschnürung verwandeln, lässt erkennen, dass noch ein weiterer Mechanismus für das Zustandekommen der Metamorphose notwendig ist. Durch die Versuche von Kühn und Piepho etc. wurde klargestellt, dass vom Gehirn aus ein Stimulus auf das Thoraxzentrum erfolgt. Diese Autoren nennen den Zeitpunkt der inkretorischen Tätigkeit des Gehirns ebenfalls „kritische Periode“. Wird das Gehirn vor diesem Zeitpunkt eliminiert, so kann die Thoraxdrüse nicht zur Wirkung gelangen, da der Stimulus des Gehirns fehlt. Schon die Schnürungsversuche an *Sialis* lassen deshalb vermuten, dass auch hier ein Anstoss vom Kopf ausgehen muss, der die Tätigkeit der Thoracaldrüse anregt. Aus den Ergebnissen ist zu schliessen, dass der Stimulus vom Gehirn sehr früh, d. h. mindestens 35 Tage vor der Metamorphose oder der Larvenhäutung erfolgen muss. Dies

geht vor allem daraus hervor, dass bis 35 Tage nach erfolgter Kopfschnürung noch Metamorphosen auftreten können. Die Thoraxdrüse musste demnach bereits vor der Schnürung vom Gehirn aktiviert worden sein. Andererseits war nach 35 Tagen nie mehr eine Metamorphose zu beobachten, obwohl viele kopfgeschnürte Tiere diese Zeitspanne gut überlebten.

b. *Schnürungen zwischen Thorax und Abdomen.*

Versuch 11. Serien 9500 und 9600.

Die Thorax/Abdomen Schnürungen von Ochsé lassen erkennen, dass das isolierte Abdomen von Tieren des letzten Larvenstadiums nicht zur Metamorphose befähigt ist. Die Ergebnisse der nachfolgenden Versuche sollen diesen Befund bei jüngeren Larvenstadien bestätigen.

20 Individuen vom Stadium 6 wurden entweder zwischen dem 1. und 2., oder dem 3. und 4. Abdominalsegment geschnürt. Leider ist auch hier die Mortalität der Vorderteile sehr gross, da der Darmtraktus getrennt und die Exkretion gestört wird. Die abgeschnürten abdominalen Hinterteile konnten bis 20 Tage nach der Operation kontrolliert werden; nach diesem Zeitpunkt gingen auch diese Teile meist an Pilzbefall zugrunde. 18 Versuchstiere wiesen keine Kiemenretraktion auf. Bei 2 Tieren konnte 14—16 Tage nach der Operation an einigen Kiemen eine atypische Kiemenretraktion beobachtet werden; doch wurde hier der Kiemeninhalt nur bis zur Hälfte retrahiert. Diese atypische Retraktion ist möglicherweise zustande gekommen, weil im abgeschnürten Abdomen bereits Metamorphosehormon in geringer Konzentration vorhanden war, dieses aber nicht ausreichte, um eine normale Kiemenretraktion auszulösen. Auch auf dem 6. Larvenstadium ist also ein vom Thorax isoliertes Abdomen nicht zur Metamorphose fähig.

Versuch 12. Serie 8800/aa.

Die Larven wurden im Mai im See gefangen. Die Tiere wurden auf der Grenze zwischen Thorax und Abdomen geschnürt. Aus dem gleichen Grunde wie im Versuch 11 gingen die Vorderteile bald p. Op. ein. Ferner wurde durch die Ligatur die Sauerstoffzufuhr zum Thorax und Kopf unterbunden. Die Abdomina wurden durch die Schnürung kaum in Mitleidenschaft gezogen und führten die

üblichen Atembewegungen aus. Da es bei den Vorversuchen oft vorkam, dass sich die geschnürten Larven mit den Kiefern die eigenen Abdomen anfrassen, wurden ihnen in dieser Serie jeweils die beiden langen, spitzen Mandibeln amputiert.

Von den 20 Versuchstieren wiesen 16 keine Reaktionen auf, obwohl die geschnürten Larvenabdomina bis über 30 Tage p. Op. kontrolliert werden konnten. Bei 4 Individuen begannen sich einige Kiemen in atypischer Weise zu retrahieren. Wahrscheinlich waren auch hier Spuren von Metamorphosehormon in den Abdomina vorhanden, welche diese Teilretraktion auszulösen vermochten (vergl. Vers. 11). Von Bedeutung ist aber, dass 16 Individuen keine Reaktion aufwiesen. Vergleicht man damit die Kopfschnürungen, so ist das Resultat überzeugend. Während in Versuch 6 durch die Kopfschnürung 71% der Larven metamorphosierten, trat bei diesen Versuchstieren keine solche Reaktion auf. Dadurch wird offenbar, dass sich das Metamorphosezentrum im Thorax befinden muss. Versuch 11 und dieser Versuch weisen auf die Existenz einer Thoraxdrüse hin.

B. Extirpationen und Implantationen

1a. *Cerebrumextirpationen.*

Nach den Ergebnissen der Kopfschnürungen scheint auch bei *Sialis* eine stoffliche Steuerung der Häutungen vom Gehirn aus zu existieren. Diese Stimulation wurde durch die Arbeiten von Kopeč (1922), Bounhiol (1936, 1938), Plagge (1938), Caspari u. Plagge (1935), Kühn u. Piepho (1936) experimentell bewiesen. Die genannten Autoren konnten bei verschiedenen Schmetterlingsarten durch Extirpation und Implantation eine sogenannte,, kritische Periode“ vor jeder Häutung festlegen. Extirpierten sie das Cerebrum vor dieser „kritischen Periode“, so traten keine weiteren Häutungen mehr auf, wurden die Gehirne nach der „kritischen Periode“ extirpiert, so trat noch eine weitere Larvenhäutung auf. Wigglesworth (1940) glaubte, dass das Gehirn bei *Rhodnius* das eigentliche Metamorphosehormon bildende Zentrum darstelle. Neuerdings wurde jedoch nun auch bei *Rhodnius* eine Thoraxdrüse gefunden.

Um die Verhältnisse bei *Sialis* zu prüfen, wurden Extirpationen und Implantationen vorgenommen. Die Extirpation des Gehirns

war infolge seiner dorsalen Lage im Kopfe relativ einfach durchzuführen. Bei manchen Larven schimmert das Gehirn sogar durch die Kopfkapsel hindurch. Die Larven wurden narkotisiert und in Ringerlösung mit übers Kreuz gesteckten Nadeln auf Paraffin befestigt. Ueber dem Cerebrum wurde mit einer feinen Uhrmacherpinzette eine klappenförmige Oeffnung in die Kopfkapsel geritzt. Mit einer Pinzette konnte der entstandene Chitindeckel umgeklappt, mit der andern Pinzette das Gehirn von seinen Nerven und Tracheenverbindungen isoliert und herausgenommen werden. Dann wurde die Chitinklappe wieder in die Oeffnung eingepasst und die Larve auf Filterpapier gebracht. Die noch vorhandene Flüssigkeit auf der Kopfkapsel wurde abgesaugt und die gut getrockneten Wundränder mit Paraffin verschlossen. Da es sich um aquatile Larven handelt, war ein Wundverschluss notwendig. Nachdem sich Collodium wenig bewährt hatte, wurde Paraffin (Schmelzpunkt 42°) verwendet. War der Paraffinverschluss nicht dicht, so traten leicht Infektionen ein, an deren Folgen die Larven nach wenigen Tagen eingingen. Die operierten Tiere erholten sich in frischem Wasser rasch von der Narkose.

Beobachtungen an den cerebrumlosen Larven.

Durch das Entfernen des Gehirns wird das Verhalten der Larven wesentlich beeinflusst. Die sonst stark negativ phototrop reagierenden Sialislarven zeigen ohne Cerebrum keine Tendenz mehr, dem Licht zu entfliehen. Bei Fütterung mit *Tubifex* stürzen sich normale Larven nach längerer Hungerperiode sofort auf die Beute. Ohne Cerebrum nehmen die Tiere die dargebotene Nahrung ebenfalls zu sich, aber nur dann, wenn sie mit den Mundwerkzeugen mit dieser direkt in Berührung kommen. Die Bewegungen der Extremitäten und die Schwimmbewegungen sind unregelmässiger. Alle diese Anomalien treten bei Larven, denen nur das Corp. cardiacum entfernt wurde, nicht in Erscheinung (vergl. S. 218).

Versuch 13. Serie aP 1—50.

Fang der Larven im Mai. Durchschnittliche Länge der Tiere 11 mm, was dem Stadium 7 entspricht. Bei den decerebralisierten Larven traten nach der Operation weitere Larvenhäutungen auf. Diese Häutungen erstreckten sich über eine Zeitspanne von 34 Tagen p. Op. Nach diesem Zeitpunkt traten keine Larvenhäutungen mehr

auf, obschon einzelne Tiere über zwei Monate beobachtet werden konnten. Von den 50 Versuchstieren trat bei 20 eine Larvenhäutung auf, 28 Tiere zeigten keine Häutungsanzeichen.

Larvenhäutung	20 =	41,6%
Keine Häutung	27 =	56,2%
Kiemenretraktion	1 =	2,2%
tot v. d. 5. Tag p. Op.	2	

Die zwei Larven, die vor dem 5. Tag p. Op. eingingen, starben an Infektionen, die von einem undichten Paraffin-Wundverschluss herrührten. Bei der einzigen Larve, die eine Kiemenretraktion aufwies, wurde diese ebenfalls durch eine Infektion am Kopfe, der sich braun verfärbte und abstarb, verursacht. Dies kam dann einer Kopfschnürung gleich, da durch die Infektion der Kopf total zerstört wurde und damit auch die Corp. allata ausgeschaltet wurden.

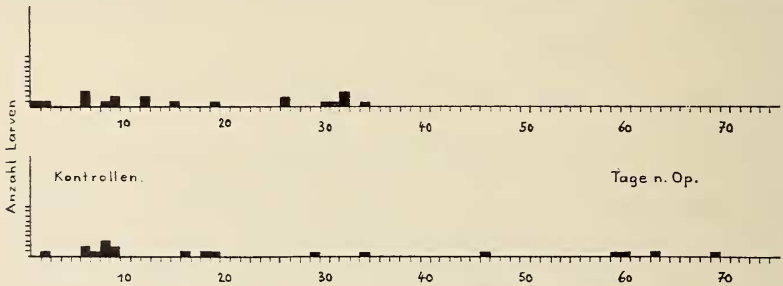


Abb. 24.
Larvenhäutungen und Kontrollen.

Im Gegensatz zu den Kopfschnürungen, bei denen Larvenhäutungen nur bis zum 5. Tage p. Op. auftraten, sind hier auch die folgenden Häutungen Larvenhäutungen. Die Corp. allata sind im Kopf noch vorhanden, werden durch das Metamorphosehormon aktiviert und geben ihrerseits einen Stoff ab, welcher der Häutung larvales Gepräge verleiht. Bei allen Tieren, die sich nach der Operation noch häuteten, muss der Gehirnstimulus vor der Operation erfolgt sein. Diejenigen Individuen, bei welchen dieser Anstoss vor der Operation nicht erfolgte, konnten sich nicht mehr häuten. Diese Tiere bleiben Dauerlarven.

Die 20 Kontrolltiere wiesen hingegen die normalen Häutungen auf, die auch nach 35 Tagen seit Versuchsbeginn noch auftraten. Das Schema zeigt die protokollierten Larvenhäutungen der Kontrollen bis zum 70. Tage. Einige der Tiere häuteten sich dann nach diesem Zeitpunkt ein zweites Mal. Eine solche zweite Häutung kam selbstverständlich bei den Versuchstieren nicht vor.

Versuch 14. Serie bP 1—36.

Die Tiere wurden am 21.7.51 gefangen; die durchschnittliche Länge betrug 13 mm, was dem Stadium 8 entspricht. Die Larven wurden vor der Operation während 3 Wochen kontrolliert und die Häutungen protokolliert. Die Operationstechnik war dieselbe wie im vorhergehenden Versuch. Nach der Operation wiesen 9 Tiere eine Larvenhäutung auf. 16 der 36 Versuchstiere zeigten keine Reaktion. 5 Larven begannen mit der Metamorphose aus dem gleichen Grunde, wie die im vorhergehenden Versuch, weil der Kopf infolge Infektion abstarb.

Larvenhäutungen	9 = 30%
keine Reaktion	16 = 53,3%
Kiemenretraktion	5 = 16,7%
tot vor dem 5. Tag	6

Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, traten hier nur bis zum 17. Tag p. Op. Larvenhäutungen auf, während bei den Kontrolltieren, ähnlich wie im vorhergehenden Versuch, die normalen Häutungen ihren Fortgang nahmen.

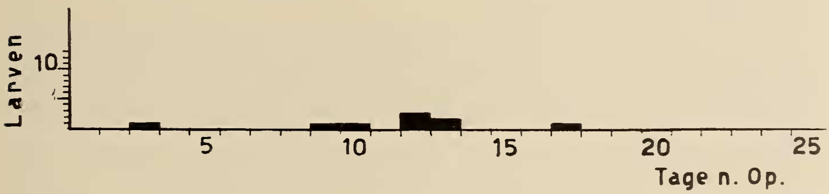


ABB. 25.
Larvenhäutungen.

Interessant ist, dass keine der Larven, die sich während der 21 tägigen Beobachtungszeit vor der Operation häutete, nach der Operation eine Häutung aufwies. Diese Tatsache zeigt wiederum,

dass ein vom Gehirn ausgehender Stimulus die Larvenhäutungen provoziert. Häutete sich eine Larve kurz vor der Operation, so konnte bis zum Operationstage vom Cerebrum aus keine neue Häutung mehr induziert werden.

Versuch 15. Serie cB 1—20.

In diesem Versuch handelt es sich um Cerebrumextirpationen an Larven des letzten Stadiums, die im Dezember gefangen wurden. Diese Larven begannen sich, wie die Kontrolltiere, nach einigen Tagen p. Op. zu verwandeln. Auffallend ist, dass in diesem Versuch bei Larven, die sich in Winter-Diapause befanden, trotz der Extirpation des Cerebrums eine Metamorphose einsetzte. Wie die Aufstellung zeigt, hat sich ein sehr hoher Prozentsatz der Tiere verwandelt.

Totale Kiemenretr. u. beg. Metam. . .	17	= 85%
Keine Metamorphose	2	= 10%
Beginn der Kiemenretr., dann tot . .	1	= 5%.

Die Tiere konnten die abgehobene Cuticula nicht abstreifen und mussten mit der Pinzette befreit werden. Dies hängt, wie schon früher erwähnt wurde, mit der Extirpation des Cerebrums zusammen.

Vergleicht man den Prozentsatz der Tiere mit Metamorphoseanzeichen dieses Versuches mit dem früherer Serien, so fällt eine starke Steigerung auf. Ausserdem setzte bei zwei Tieren noch am 42. und 46. Tag p. Op. eine Metamorphose ein, während die Larvenhäutungen der vorigen zwei Versuchsserien nur bis zum 34. Tage p. Op. eintraten.

Zu bemerken ist, dass ja auch bei den kopfgeschnürten zweitjährigen Diapauselarven noch nach 34 Tagen p. Op. Larven metamorphosierten, wie auch der hohe Prozentsatz der verwandelten Tiere analog ist.

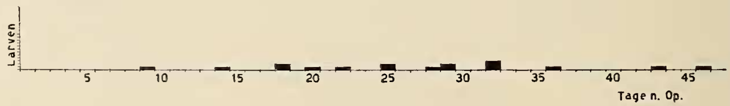


Abb. 26.

Die Resultate bei den Versuchen mit Kopfschnürungen und denen mit Extirpation des Cerebrums an Larven des letzten Sta-

diums können durch eine der folgenden zwei Hypothesen erklärt werden:

1. Es erfolgt bereits kurz nach der letzten Larvenhäutung vor der Diapause eine Aktivierung des Metamorphosezentrums durch das Cerebrum. Dieser Stimulus müsste aber schon im Herbst auf die Thoracaldrüse einwirken, da ja die Metamorphose in der Natur erst im Frühjahr einsetzt.

2. Es erfolgt nach der letzten Larvenhäutung überhaupt kein Metamorphosestimulus mehr vom Gehirn aus und die Verwandlung im Frühjahr wird von der Thoracaldrüse selbst bewirkt. Da aber für die Larvenhäutungen ein Gehirnstimulus notwendig ist, scheint es unwahrscheinlich, dass im letzten Stadium dies nicht der Fall sein sollte.

Ich werde in der Schlussbetrachtung noch einmal auf diese Fragen zurückkommen.

1b. *Cerebrumimplantationen.*

Um die Stimulationswirkung des Cerebrums noch eingehender zu untersuchen, wurden Gehirne transplantiert. Die Transplantationen wurden mit feinen Uhrmacherpinzetten ausgeführt. In die Empfängerlarve wurde eine kleine Oeffnung geschnitten und das Cerebrum in diese hineingeschoben. Bei den Transplantationen ins Abdomen schloss sich die Wunde jeweils sofort wieder, so dass auf ein Paraffinwundverschluss verzichtet werden konnte, was bei Implantationen im Thorax oder in der Kopfgegend nicht möglich war.

Versuch 16. Serie 9800—9818.

In das Abdomen von kopfgeschnürten Larven des 7. Stadiums wurde je ein Cerebrum einer gleichaltrigen Larve implantiert. Wie schon erwähnt, ist es noch unbekannt, durch welche Einflüsse das Cerebrum aktiviert wird. Da dies eventuell durch einen plötzlichen Temperaturwechsel bewirkt werden kann, wurden die Spenderlarven aus dem Kühlschrank vor der Extirpation für zwei Tage in Zimmertemperatur gebracht. Ob dieser rasche Temperaturwechsel eine aktivierende Wirkung hatte, kann nicht mit Sicherheit festgestellt werden, da die Cerebra ohnehin bereits aktiviert sein konnten. Die Empfängerlarven kamen wie üblich direkt aus der Kälte.

Resultat: Totale Kiemenretraktion . . 13 = 68%
Keine Kiemenretraktion . . 6 = 32%.

Wie aus den Resultaten der Kopfschnürungen zu erwarten war, verwandelte sich ein bestimmter Prozentsatz der Tiere nach der Schnürung. 7 Individuen begannen bereits 4—10 Tage p. Op. mit der Metamorphose. Dieses Ergebnis muss auf eine vom implantierten Cerebrum ausgehende Wirkung zurückgeführt werden, denn in keiner einzigen Versuchsserie der Kopfschnürungen trat je vor dem 10. Tage p. Op. bereits eine Kiemenretraktion auf. Auch bei den 20 kopfgeschnürten Kontrolltieren ohne Cerebrumimplantation zeigte erst 10 Tage nach Versuchsbeginn die erste Larve eine vollständige Kiemenretraktion. Während bei den Versuchstieren 68% Metamorphoseanzeichen aufwiesen, zeigten bei den Kontrolltieren nur 45% eine solche Reaktion.

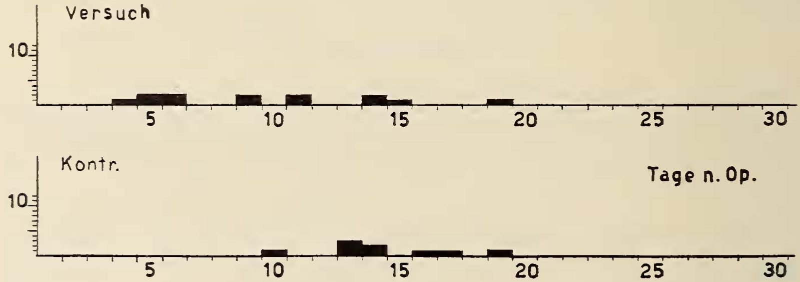


Abb. 27.

Leider ist es, wie erwähnt, noch unbekannt, durch welche primären Einflüsse das Gehirn von *Sialis* aktiviert werden kann. Durch den zweitägigen Aufenthalt der Spenderlarven in Zimmertemperatur scheint eine gewisse künstliche Aktivation erreicht worden zu sein; doch konnten nicht die Gehirne aller Larven angeregt werden, da nur 68% der Empfängerlarven mit der Metamorphose begannen. Doch liefert dieser Versuch einen weiteren Beweis für die Aktivität des Gehirns.

Versuch 17. Serie aG 1—25.

Tiere des letzten Larvenstadiums, die sich bereits in Winterdiapause befanden, wurden kopfgeschnürt. In das Abdomen dieser

Larven wurde ein Cerebrum einer Larve gleichen Alters implantiert. Die Spenderlarven wurden aus dem gleichen Grunde wie in Versuch 16 in Zimmertemperatur gehalten (eventuelle Aktivierung des Cerebrums durch Temperatursteigerung). Die Empfängerlarven kamen direkt aus 4° C in den Versuch. Die Implantationsöffnung schloss sich nach der Einführung des Gehirns von selbst und wurde

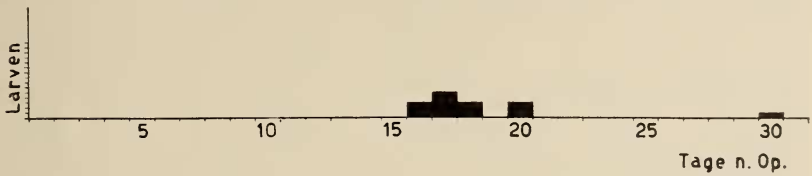


Abb. 28.

nicht mit Paraffin verklebt. 2 Tiere starben vor dem 10. Tage p. Op. Von den restlichen 23 Larven zeigten:

Keine Tracheenretraktion	6 = 26%
Einsetzen der Metamorphose	17 = 74%.

Die erste Larve wies 16 Tage nach der Operation eine vollständige Kiemenretraktion auf. In den folgenden 5 Tagen zeigte sich eine starke Häufung metamorphosierender Tiere; eine Larve verwandelte sich am 30. Tage p. Op.

Die Tabelle zeigt, verglichen mit derjenigen von Versuch 16, dass die Implantation der Gehirne keinerlei Einfluss auf den Metamorphosebeginn ausübte. Das Cerebrum der Diapauselarven ist nicht mehr fähig, die Thoraxdrüse zu stimulieren. Wahrscheinlich findet, wie bereits erwähnt, schon früher, bevor die Larven in Diapause treten, eine Stimulierung statt.

Versuch 18. Serie 8800—8820.

Die Larven wurden in gleicher Weise wie im Versuch 12 auf der Thorax/Abdomengrenze geschnürt. Ins isolierte Abdomen wurde ein Cerebrum einer Larve gleichen Stadiums mit einer feinen Pipette implantiert. Spender und Empfänger waren Larven des Stadiums 8. Die Empfänger kamen direkt aus der Kälte, die Spender wurden vor der Operation einige Tage in Zimmertemperatur gehalten. Die isolierten Abdomina zeigten folgende Reaktion:

Keine Kiemenretraktion . . . . . . 16 = 76,2%
atypische Kiemenretraktion . . . . . 5 = 23,8%

---

tot vor 10. Tag 0

Das Ergebnis zeigt, dass trotz der Cerebrumimplantation sich die Abdomina nicht anders verhielten, als diejenigen der Tiere in den Versuchen 11 und 12. Im Versuch 16 konnte durch die Cerebrumimplantation die sekretorische Tätigkeit der Thoraxdrüse beschleunigt werden. Der vorliegende Versuch beweist, dass das Cerebrum, welches die Thoraxdrüse aktiviert, allein keine Metamorphose auszulösen vermag. Die atypischen Retraktionen zeigten dieselben Erscheinungen wie im Versuch 12 und blieben auf ihrem Anfangsstadium stehen, obwohl die Larven z. T. während 20 Tagen kontrolliert werden konnten. Die Ursache dieser atypischen Retraktion wurde bereits im Versuch 12 erläutert.

Versuch 19. Serie aK 1—19.

Mit diesem Versuch soll geprüft werden, ob durch Implantation eines aktivierten Gehirns einer Larve des letzten Stadiums eine Diapauselarve zur Metamorphose angeregt werden kann. Williams (1948) gelang es durch implantierte, aktivierte Gehirne von *Cecropia*, Diapauselarven zur Weiterentwicklung zu bringen.

Für den Versuch wurden 19 Larven des letzten Stadiums aus dem See (4° C) in Zimmertemperatur gebracht. Die Gehirne dieser Individuen wurden Diapauselarven, die weiter in der Kälte bei 4° C gehalten wurden, in den Kopf implantiert. Diese Larven besassen demnach neben ihren eigenen ein zusätzliches Spendergehirn.

Diese Implantationen zeigten keinerlei Resultat. Die Larven verharrten weiter in Diapause und wurden 36 Tage nach Versuchsbeginn schliesslich in Zimmertemperatur gebracht. Von den 19 Larven hatten 14 Tiere (73%) nach 10—18 Tagen seit Aufenthalt in der Wärme die Kiemen retrahiert. Dieses Ergebnis zeigt, dass erst ein Aufenthalt des Empfängertieres in Zimmertemperatur die Diapause abzubrechen und die Metamorphose einzuleiten vermag. Das Gehirn weist also keine stimulierende Wirkung mehr auf und hat wahrscheinlich schon zu Beginn der Diapause das Metamorphosezentrum aktiviert, welches später autonom auf die Temperatursteigerung reagiert.

2. *Corpus-cardiacum-Extirpationen.*

Ueber experimentelle Studien mit den Corpora cardiaca der Insekten liegen nur wenige Arbeiten vor. Thomsen (1943) untersuchte die Wirkung des Corp. card. auf den Farbwechsel bei *Leander*. Bei Libellen hat die Extirpation der Corp. cardiaca keinen Einfluss auf die Metamorphose.

Die Extirpation des Corp. card. bei *Sialis* bereitet keine besonderen Schwierigkeiten. Die unpaare Natur des Organs, seine Lage dorsal über dem Darm hinter dem Cerebrum und die entfernte Lage der Corp. allata vom Cardiacum, gestatten eine Extirpation, ohne die andern erwähnten Organe zu schädigen. Die angewandte Operationstechnik ist dieselbe wie bei den Cerebrumextirpationen. Die das Cardiacum mit den andern Organen verbindenden Nerven wurden sorgfältig durchtrennt und das Organ mit der Pinzette unter möglichster Schonung der darüberliegenden Aorta extirpiert. Ein ausgeprägtes abnormes Verhalten, wie dies bei den cerebrumectomierten Larven der Fall war, konnte hier nicht beobachtet werden.

Versuch 20. Serie cE 1—28.

Die Tiere wurden im Juni gefangen, in der Kälte aufbewahrt und im Juli operiert. Es waren Larven vom Stadium 7, ihre durchschnittliche Länge betrug 11 mm. Alle Individuen wurden nach der Operation in regelmässigen Abständen mit *Tubifex* gefüttert. Drei Tiere gingen in den ersten 5 Tagen p. Op. ein, da der Wundverschluss nicht genügend war. Die übrigen Individuen zeigten folgende Reaktionen:

Keine Kiemenretraktion	15 = 60%
Larvenhäutung	7 = 28%
Kiemenretraktion	3 = 12%

Die Kiemenretraktion der 3 Larven ist auf eine Infektion, welche die Corp. all. zerstörte, zurückzuführen. (Vergl. Versuch 13). Diese Kiemenretraktionen können also nicht als Folge der Cardiacum-Extirpation gewertet werden. Die Larvenhäutungen traten während 32 Tagen p. Op. auf. 5 Tiere konnten bis 90 Tage nach

der Extirpation beobachtet werden. Keine dieser Larven häutete sich in dieser Zeitspanne und sie blieben deshalb im Wachstum weit hinter den normalen Tieren zurück (Länge der Versuchstiere 10 mm, Länge der Kontrolltiere 16—20 mm). Trotz Nahrung und obwohl Gehirn, Corp. all. und Thoraxdrüse noch vorhanden waren, scheint der normale Entwicklungsablauf durch die Extirpation gestört worden zu sein. Ob es sich eventuell nur um eine Störung der nervösen Bahnen handelt, kann aus diesem Versuch nicht geschlossen werden. Es sei aber erwähnt, dass Possompès (1951) durch Untersuchungen an *Calliphora* zu einem ähnlichen Schluss gelangte; allerdings weichen die Verhältnisse bei den Dipteren etwas von denjenigen bei den übrigen Insekten ab.

Versuch 21. Serie dE 1—28.

Bei den Tieren dieses Versuches handelt es sich um Larven des letzten Stadiums, die sich in der winterlichen Diapause befanden. Die Operation wurde Ende Februar durchgeführt.

Es zeigte sich, dass die Larven auch ohne Cardiacum fähig sind, eine normale Metamorphose zu durchlaufen. Von den 28 Versuchstieren verwandelte sich nur eines nicht. Alle übrigen Larven wiesen 5—20 Tage p. Op. eine totale Kiemenretraktion mit anschliessender Metamorphose auf. Das frühe Einsetzen der Metamorphose bereits 5 Tage nach Extirpation und Aufenthalt in Zimmertemperatur konnte auch bei den Kontrolltieren beobachtet werden und ist nicht auf die Extirpation zurückzuführen. Wie aus diesen Resultaten geschlossen werden kann, ist das Corp. card. für einen normalen Ablauf der Metamorphose nicht notwendig. Entgegen den Beobachtungen während der Metamorphose von cerebrumectomierten Larven, die sich nicht mehr selbständig von der Larvenhaut zu befreien vermögen, können diese Tiere die Larven- und auch die Puppenhaut gut abstreifen.

3. *Corpus-allatum-Extirpationen.*

Durch Kopfschnürungen in den verschiedenen Larvenstadien konnte bekanntlich eine frühzeitige Metamorphose ausgelöst werden. Dieses Ergebnis lässt bereits vermuten, dass diese Reaktion durch Ausschalten der Corp. allata zustande kommt. Aber auch in

Analogie zu den Versuchen von WIGGLESWORTH (1934, 1940), KIN (1939), FUKUDA (1940), PFLUGFELDER (1937, 1937, 1938), PIEPHO (1939, 1940, 1943, 1946, 1948), BOUNHIOL (1936, 1944), schien diese Vermutung berechtigt. Diese Autoren konnten durch Extirpation und Implantation der Corp. allata deren Einfluss auf die Larvenhäutungen nachweisen. Durch Extirpation dieser Organe wurde eine frühzeitige Verpuppung erreicht, durch Implantation in Larven des letzten Stadiums weitere, überzählige Larvenhäutungen provoziert.

Da durch die Cerebrumversuche und die Cardiacumextirpationen keine Metamorphosereaktion erhalten wurde, schien es weiter berechtigt, die Corp. allata dafür verantwortlich zu machen. In den folgenden Experimenten sollten daher die Kopfschnürungsversuche durch Extirpation der Corp. allata bestätigt werden. Die Ectomie der Corp. allata ist bei *Sialis* sehr schwierig durchzuführen. Die laterale Lage dieser Organe beiderseits des Oesophagus, d.h. weit im Körperinnern, erfordert einen grossen Eingriff. Die Operationstechnik war dieselbe wie bei den übrigen Extirpationen. Weitere Schwierigkeiten bot die unregelmässige Färbbarkeit der Corp. allata mit Methylenblau. Es gelang lange nicht in allen Fällen, diese Körper zu färben; ohne Anfärbung waren die kleinen Gebilde aber kaum aufzufinden. In die Extirpationsöffnung wurden mit einer feinen Glaspipette einige Tropfen ca. 0,25%ige, wässrige Methylenblaulösung eingespritzt, die ich ca. 1 Minute einwirken liess. Der dorsale Kopfteil wird vor allem durch die beiden Musculi add. mand. 1 ausgefüllt. Damit man für die Extirpation zu den Corp. all. gelangen konnte, mussten zum mindesten einige dieser Muskelstränge durchtrennt werden. Bei den meisten operierten Tieren gelang wenigstens die Ectomie e i n e s Corpus all. In wenigen Fällen war auch die Extirpation des zweiten Körperchens gelungen, ohne dass die Larven nach der Operation gleich eingingen. Ein Vorteil gegenüber anderen Insekten besteht darin, dass die Corp. all. von *Sialis* gut getrennt vom Corp. cardiacum liegen und somit ohne Verletzung desselben extirpiert werden können.

V e r s u c h 2 2. Serie aO 55—155.

Als Versuchstiere dienten Larven des 7. und 8. Larvenstadiums, die im Juli gefangen wurden. Zu diesem Zeitpunkt sind im See sicher keine reifen zweitjährigen Larven mehr vorhanden, anderer-

seits erlaubt die ordentliche Grösse der Tiere (10—14 mm) ein gutes Operieren. Das Ergebnis lautet:

Keine Metamorphoseanzeichen	39 =	76,5%
Kiemenretraktion unvollkommen . . .	2 =	3,9%
Einsetzen der Metamorphose	10 =	19,6%.

Ein Tier häutete sich vor dem 5. Tag p. Op., zwei Larven häuteten sich noch nach diesem Zeitpunkt. Bei den Versuchstieren,



Abb. 29.
Versuchstier aO 151 ♀ (unten).
Vergleichstier: normale zweitjährige Imago ♀ (oben).

bei welchen nur ein Corp. all. ectomiert werden konnte, war die Konzentration des noch vorhandenen Larvenhäutungswirkstoffes anscheinend nicht genügend, um eine Larvenhäutung zu bewirken, andererseits konnte aber auch keine Metamorphose zustande kommen. Auch nach einer Beobachtungsdauer von 30—40 Tagen zeigten diese Tiere keine Reaktion. Bei den Kontrollen traten weiterhin Larvenhäutungen auf. Berücksichtigt man die erschwerten Umstände für die Extirpation, so kann das erhaltene Resultat doch als gut bezeichnet werden. Die Larven mit vollständiger Kiemenretraktion erreichten verschiedene Entwicklungsstadien der Puppenausbildung. Abbildung 29 zeigt eine weibliche Imago, die sich aus einer Larve des Stadiums 8 entwickelt hat. Daneben als Kontrolle ein normales Weibchen.

Damit ist auch für *Sialis* bewiesen, dass die Corp. all. das Häutungshormon produzieren und die Larvenhäutungen bewirken. Der Metamorphosemechanismus stimmt demzufolge mit demjenigen der übrigen Insekten überein.

Versuch 23. Serie aH 1—44.

Die zur Operation verwendeten Tiere waren alles Diapauselarven vom letzten Stadium. Sie wurden anfangs Oktober gefangen und operiert. Die Operationstechnik war dieselbe wie im Versuch 22.



Abb. 30.

Nach der Operation starben 8 Larven, bevor sie den 10. Tag p. Op. erreichten. Von den übrigen 36 Individuen zeigten:

Keine Metamorphoseanzeichen	16 = 44,5%
Kiemenretraktion unvollkommen . . .	4 = 11%
Einsetzen der Metamorphose	16 = 44,5%.

Zu bemerken ist, dass die Operation auch an diesen grösseren Larven dieselben Schwierigkeiten bereitete, wie im Versuch 22. Bei einigen Individuen konnte mindestens ein Corp. all. mit Sicherheit extirpiert werden, bei anderen gelang die Corp.-all.-Ectomie vollständig. Bei den 16 Individuen, welche keine Retraktion aufwiesen, war wahrscheinlich nur ein Corp. all. vollständig entfernt worden. Die meisten dieser Larven gingen nach dem 20. Tage p. Op. an Infektionen ein. Interessant ist, dass die totalen Kiemenretraktionen der 16 Individuen nicht wie bei den Kontrollen (vergl. Versuch 8) zeitlich zerstreut auftraten, sondern sich wie bei den kopfgeschnürten Diapauselarven des Versuchs 8 um den 18. Tag p. Op. häuften.

Vergleicht man also die Resultate dieses Versuchs mit denjenigen von Versuch 8, so ist daraus deutlich ersichtlich, dass die Verzögerung im Auftreten der Metamorphose von Diapauselarven in

der Wärme durch eine nochmalige Aktivität der Corp. all. zu Stande kommt, und dass bei den geschnürten Tieren das Ergebnis in der Tat auf eine Ausschaltung der Corp. all. zurückzuführen ist. Die schon in der Mitteilung von Geigy und Rahm (1951) ausgesprochene Vermutung konnte damit bestätigt werden.

4. *Implantation von Prothoraxdrüsen.*

Um zu prüfen, ob es sich bei dem als Prothoraxdrüse beschriebenen Organ um die das Metamorphosehormon sezernierende Drüse handelt, führte ich folgendes Experiment aus:

Als aktiviert betrachtete Prothoraxdrüsen von Diapauselarven wurden in geschnürte Abdomen von Diapauselarven implantiert. Als Spender verwendete ich Diapauselarven, die zur Aktivierung der Drüse 9—18 Tage in Zimmertemperatur gehalten wurden. Für die Extirpation der Thoraxdrüsen wurden die Tiere in Ringerlösung dorsal geöffnet und der Thorax mit Methylenblau leicht angefärbt. Die bläulich gefärbten Drüsen konnten mit zwei feinen Pinzetten mit den entsprechenden Abschnitten der beiden Haupttracheenstämme herauspräpariert werden. Als Empfänger dienten Diapauselarven aus dem Kühlschrank. Durch eine Ligatur auf der Thorax/Abdomengrenze konnte das Abdomen vom übrigen Larvenkörper abgetrennt werden. In das isolierte Abdomen wurde zwischen dem 3. und 4. Segment mit einer feinen Pinzettenschere eine Oeffnung geschnitten und mit der Pinzette wurden die Thoraxdrüsen implantiert. Paraffin diente als Wundverschluss. Als Kontrollen dienten Larven gleichen Alters, die auf der Thorax -Abdomen-Grenze geschnürt wurden. Wenige Tage nach der Operation starben die meisten Vorderteile der Versuchslarven ab. Um ein Uebergreifen der Infektionen auf die gut weiterlebenden Abdomen zu verhindern, sind die abgestorbenen Vorderteile meist abgeschnitten worden. Von den 20 Versuchstieren zeigten:

Keine Metamorphoseanzeichen	9 = 45%
Kiemenretraktion unvollkommen . . .	8 = 40%
Einsetzen der Metamorphose	3 = 15%.

Bei den 3 Individuen retrahierte sich der Kiemeninhalt normal bis zur Bildung des Retraktionsstummels. Bei 2 dieser 3 Larven gingen die Abdomina auf diesem Metamorphosestadium ein, bei

der 3. entwickelte sich das Abdomen auf feuchter Watte weiter. Unter der abgehobenen Larvencuticula hatte sich ein normales Puppenabdomen ausgebildet. Abbildung 31 zeigt dieses Versuchstier. Der Vorderteil ist abgestorben, der Hinterteil als Puppenabdomen ausgebildet, die künstlich entfernte Larvencuticula ist noch sichtbar.

Wie bereits erwähnt, ist die Kiemenretraktion ein sicheres Anzeichen beginnender Metamorphose; bei den Kontrollen war

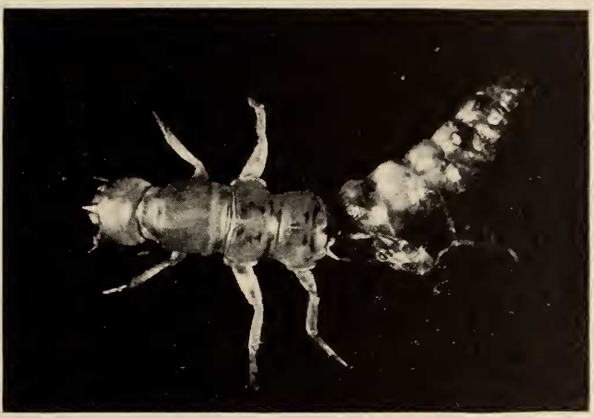


Abb. 31.
Versuchstier aR 18. Vorderteil larval, tot.
Abdomen verpuppt, noch lebend; abgelöste, eingetrocknete Larvencuticula sichtbar.

in keinem Fall eine solche Reaktion festzustellen. Folgende Bemerkungen sollen hier angeführt werden:

1. Der Zeitpunkt der aktiven Phase der Prothoraxdrüse kann in diesem Diapauseabschnitt nicht genau bestimmt werden.

2. Der im morphologischen Teil beschriebene, caudale Drüsenast brach bei der Ectomie meist ab.

3. Es wurde jeweils nur ein Paar Thoraxdrüsen implantiert, um eine zu lange, eventuell schädliche Einwirkung der Insektenringerlösung zu vermeiden. Unter Umständen muss die Ringerlösung durch Körperflüssigkeit ersetzt werden.

Das vorliegende Experiment soll lediglich als Vorversuch aufgefasst werden, dessen Ergänzung in Aussicht steht. Immerhin

können die erhaltenen Ergebnisse als positive Reaktion auf das Drüsenimplantat gewertet werden und weisen auf eine innersekretorische, die Metamorphose auslösende Tätigkeit dieses Organes hin. Besonders der Fall, bei welchem sich ein Puppenabdomen gebildet hat, ist wohl ein eindeutiger Beweis dafür, da, wie bereits erwähnt, bei den Kontrolltieren nicht einmal Kiemenretraktionen auftraten.

Bei weiteren Experimenten können die 3 aufgeführten Hinweise berücksichtigt werden. Der genaue Zeitpunkt der sekretorischen Tätigkeit der Prothoraxdrüse der Diapauselarven in Zimmertemperatur muss festgestellt werden. Nach meinen Resultaten ist hierzu vor allem die Periode gegen Ende der Diapausezeit im See (März) geeignet, da zu diesem Zeitpunkt das Hormonquantum sein Maximum erreicht. Ferner sollten mindestens 2—3 Paar Thoraxdrüsen implantiert werden, um einen eventuellen Wirkstoffverlust bei Beschädigung der Drüsen zu kompensieren. Diese Testmethode, die auch bei Schmetterlingen Anwendung gefunden hat, ist gut geeignet, die hormonale Wirkung der Thoraxdrüse zu prüfen.

DISKUSSION DER RESULTATE

Im folgenden soll versucht werden, an Hand der Resultate die innersekretorische Steuerung der postembryonalen Entwicklung bei *Sialis lutaria* zusammenfassend zu erläutern.

a) Die Verhältnisse während der Larvenstadien 1—9.

Aus den Kopfschnürungsversuchen können vor allem drei Resultate ermittelt werden:

1. Ausschalten des Kopfes ergibt frühzeitige Metamorphose.
2. Eine Metamorphose ist aber nur bis maximal 35 Tage nach der Operation möglich; alle Larven, die diesen Zeitpunkt überleben, bleiben Dauerlarven.
3. Larvenhäutungen treten nur bis zum 5. Tag nach der Schürung auf.

Aus Punkt 1 kann geschlossen werden, dass die Corp. allata, welche die Larvenhäutungen bestimmen, an ihrer Wirkung ver-

hindert werden. Punkt 2 und 3 weisen darauf hin, dass es sich um einen stofflichen Faktor handelt, der die Larvenhäutungen auslöst und welcher 5 Tage vorher in den Körper abgegeben wird. Dieser Zeitpunkt der Sekretion wird allgemein als „kritische Periode" bezeichnet. Wird vor der kritischen Periode geschnürt, in unserem Fall also vor dem 5. Tage vor einer Häutung, so kann der Stoff nicht mehr in den abgeschnürten Teil gelangen und seine Wirkung fällt dahin. In Analogie zu den Ergebnissen von Piepho, Bounhiol, Pfugfelder, Wigglesworth an anderen Insekten, kommen auch bei *Sialis* die Corp. allata als Organ in Betracht, welches das Larvenhäutungshormon ausscheidet. Diese Körper liegen im Kopf und zeigen den Habitus innersekretorischer Organe. Durch die Extirpationsresultate der Versuche 22 und 23 konnte in der Tat diese Vermutung bestätigt werden. Weitere Larvenhäutungen kamen zustande, wenn statt einer Kopfschnürung nur das Gehirn extirpiert wurde, denn die Corpora allata sind noch vorhanden und ihr Hormon genügt offenbar als Auslöser. Die Verhältnisse bei *Sialis lutaria* L. entsprechen demnach denjenigen bei den übrigen untersuchten Insekten.

Dass das Cerebrum am hormonalen Geschehen ebenfalls beteiligt ist, zeigen die Schnürungsversuche und die Gehirnextirpationen. Aus den Ergebnissen der beiden Versuchsreihen geht hervor, dass der Häutungs- und Metamorphosevorgang einen stofflichen Stimulus vom Gehirn aus braucht, um in Aktion treten zu können. Die kritische Periode für die Sekretion des Gehirnstoffes liegt bei 35 Tagen vor einer Häutung. Wird vor diesem Zeitpunkt geschnürt, so kommt weder eine Metamorphose noch eine Häutung zustande und die Larven bleiben Dauerlarven. Ein weiterer Hinweis auf eine sekretorische Tätigkeit des Cerebrums bilden die grossen Zellen der Partes intercerebrales, die, wie bereits früher erwähnt, bei vielen Insekten nachgewiesen worden sind. Die Rolle des Corp. cardiacum konnte nicht eindeutig abgeklärt werden; sicher bewirkt seine Extirpation keine frühzeitige Metamorphose. Eventuell werden die Corp. allata auf nervösem Weg von diesem Organ beeinflusst.

Das als Prothoraxdrüse beschriebene Organ kann als eigentliches Metamorphosezentrum gedeutet werden. Seine Lage im Thorax und die histologischen Befunde sprechen für diese Annahme.

Im nachfolgenden Schema sind der Wirkungsmechanismus und die -folge der beschriebenen innersekretorischen Drüsen dargestellt.

Die Pfeile weisen auf die Organe hin, die in der dargestellten Reihenfolge aktiviert werden. Bei einer Larvenhäutung wirkt das

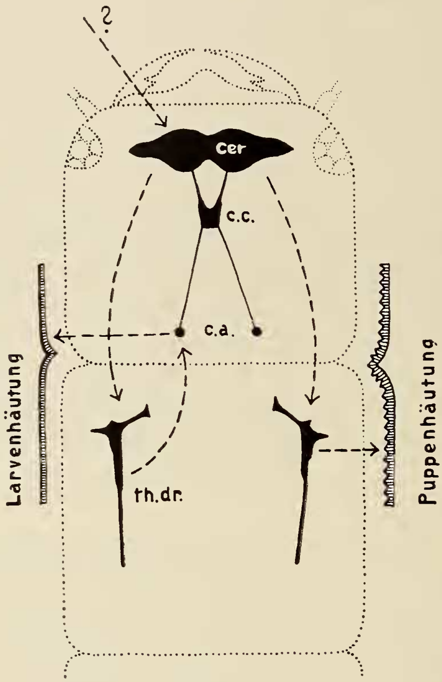


Abb. 32.

Schema der Wirkungsweise der innersekretorischen Drüsen.

Cer = Cerebrum
c. c. = Corp. cardiacum
c. a. = Corp. allatum
th. dr. = Prothoraxdrüse

Gehirn auf die Prothoraxdrüse, diese auf das Corp. allatum und dieses auf den Organismus. Bei der Metamorphose hingegen wirkt die Prothoraxdrüse direkt auf den Insektenkörper.

b) *Die Verhältnisse während des 10. Larvenstadiums. (Diapausestadium.)*

Bereits Geigy u. Ochsé schenkten diesem letzten Larvenstadium besondere Aufmerksamkeit. Beiden Autoren gelang es, Diapauselarven durch Aufenthalt in der Wärme (Zimmertemperatur 17—20° C) zum Abbruch der Diapause und zur Metamorphose

zu zwingen. Es zeigte sich, dass Diapauselarven, welche im Oktober in Zimmertemperatur gebracht wurden, bis zum Metamorphoseeintritt ca. 28 Tage benötigten. Bringt man die Diapausetiere erst im März in Zimmertemperatur, so dauert es durchschnittlich 10—15 Tage bis zur Verwandlung. In Abb. 33 sind die Daten, welche Ochsé erhielt, noch einmal dargestellt (punktierte Linie).

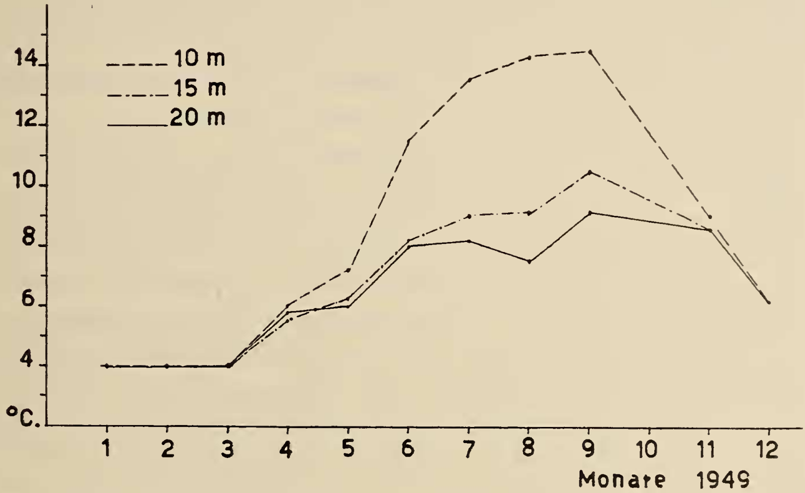


Abb. 33.

Die ausgezogene Linie in dieser Darstellung bezieht sich auf meine Kopfschnürungsversuche an den Diapauselarven.

In der Tabelle 34 sind die Ergebnisse von zwei meiner Versuchsserien aufgetragen. Aus der Darstellung geht klar hervor, dass die im Dezember in Zimmertemperatur verbrachten Tiere eine sehr grosse Streuung in Bezug auf den Metamorphoseeintritt aufweisen. Die im April aus dem See in die Wärme gebrachten Larven metamorphosierten bereits nach 4—7 Tagen und die Zeitspanne, in der die Verwandlungen eintraten, erstreckte sich nur über 4 Tage. Prozentual haben sich im Dezember 66%, im April 75% der Tiere verwandelt.

Diese beiden Resultate bestätigen aufs Beste die von Geigy (1937) und Ochsé (1944) gemachten Feststellungen. Es ist klar ersichtlich, dass, je länger die Diapausezeit schon gedauert hat, desto weniger lang die Larven brauchen, bis sie mit der Meta-

morphose beginnen. Wie schon GEIGY feststellte, kann der Metamorphosevorgang selbst nicht beeinflusst werden, sondern nur die von GEIGY als „Periode des Heranreifens zur Metamorphosebereitschaft" bezeichnete Zeitspanne. GEIGY schreibt, dass es sich wahrscheinlich ganz allgemein um physiologische Zustandsänderungen handeln muss, und dass deren Ablauf durch Temperatursteigerung aktiviert werden kann. Aus den Versuchsergebnissen geht aber hervor, dass die Metamorphosebereitschaft des Reaktionssystems bereits bei den jungen Larven vorhanden ist. Nach den von mir erhaltenen Resultaten können die Verhältnisse während der Diapause folgendermassen präzisiert werden:

Die Schnürungsresultate von Versuch 8 zeigen, dass sich diese Larven bereits 16—17 Tage nach dem Einbringen in Zimmertemperatur verwandeln. Durch die Schnürung kann das Corpus-allatum-Hormon nicht in den Körper gelangen. Bei den Kontrolltieren dauert es, wie bei den Versuchen von GEIGY, 3—4 Wochen, bis sich die Mehrzahl der Larven metamorphosieren. Der Prozentsatz der sich verwandelnden Larven ist bei den geschnürten Tieren ebenfalls höher als bei den Kontrollen. Diese Ergebnisse zeigen, dass das Corp. allatum auch im letzten Larvenstadium nochmals eine Tätigkeit entfaltet, allerdings nur noch in minimaler Sekretion, deren Konzentration im Körper nicht mehr ausreicht für eine Larvenhäutung, aber die Metamorphose verzögern kann, oder überhaupt verunmöglicht. Durch die Resultate der Corpus-allatum-Ectomien ist bewiesen, dass diese Verzögerung oder Verunmöglichung der Metamorphose durch das Corpus-allatum-Hormon bewirkt wird. In der Natur kann während der Diapause im See bei 4° C das Corp. allatum nicht zu dieser Entfaltung gelangen. Durch das Einbringen in Zimmertemperatur wird aber die Drüse nochmals aktiviert. Bei den im Frühjahr in die Wärme verbrachten Tieren ist dann die Wirkung der Corp. allata nicht mehr möglich, da sie während der bereits durchlaufenen Diapausezeit ihre Reaktionsfähigkeit weitgehend eingebüsst haben. Im natürlichen Milieu wird also im Frühling, wenn die Metamorphose einsetzt, das Corp. allatum nicht mehr aktiviert und die Verwandlung nimmt ihren normalen Verlauf, ohne eine Verzögerung zu erfahren.

Interessant sind in diesem Zusammenhang die Resultate des Versuchs 9, die zeigen, dass geschnürte Larven, die nach der Operation 35—45 Tage weiter bei 4° C gehalten und dann erst in

Zimmertemperatur gebracht wurden, bereits nach 5—10 Tagen mit der Metamorphose begannen. Diese Tiere reagieren ungefähr wie normale Larven, die sich im Frühjahr verwandeln. Durch die Kopfschnürung wurde ein eventueller Nachschub von Corpus-allatum-Hormon verhindert und das sich noch im Körper befindliche Hormon in den 1½ Monaten eliminiert, so dass die Verwandlung in der Wärme schnell eintreten konnte. Andererseits muss auch ein Aufladen der Thoraxdrüse mit Metamorphosehormon im Verlaufe der Diapause angenommen werden. Wie die Gehirnextirpationen von Versuch 15 zeigen, findet während der Diapause keine Stimulation vom Gehirn aus mehr statt, sie erfolgt kurz nach der 9. Larvenhäutung im September. Die Prothoraxdrüse ist also bereits aktiviert, wenn das Diapausestadium eintritt. Es kann also angenommen werden, dass während der Winterdiapause im See bei 4° C die Anreicherung des Hormons in der Thoraxdrüse während einer längeren Zeitspanne allmählich erfolgt. Im Frühling hat dann das Metamorphosehormon seine maximale Konzentration erreicht, wird ausgeschüttet und gelangt zur Wirkung. Diese Deutung ist vor allem durch folgenden Versuch gerechtfertigt: Diapauselarven wurden am 10. März aus dem See gefangen und im Laboratorium im Eisschrank bei 4—6° C weiter gehalten. Mitte April konnten am

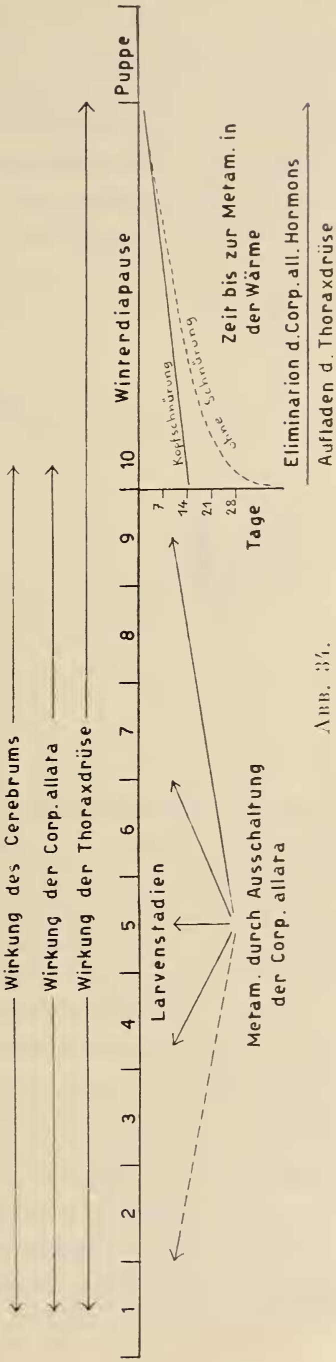


Abb. 34.

Sempachersee die ersten Imagines beobachtet werden, bei den Larven im Eisschrank waren noch keine Metamorphoseanzeichen zu erkennen. In der Zeit vom 20.—25. Mai metamorphosierten aber 81% der Versuchstiere im Eisschrank trotz der niederen Temperatur. Dieses Resultat erlaubt den Schluss, dass, wenn die nötige Konzentration des Metamorphosehormons einmal erreicht ist, die Metamorphose auch bei diesen Temperaturverhältnissen

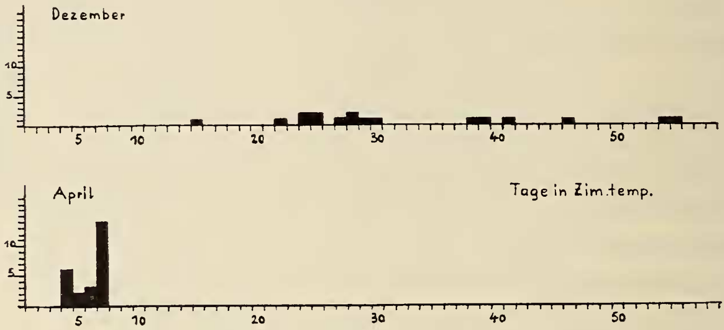


Abb. 35.
Seetemperaturen in 10, 15 und 20 m. (Sempachersee).
Nach Grobe, unveröffentlicht.

zustande kommt. Durch ganz niedere Temperaturen von 0—4° C konnte Ochsé (1944) den Metamorphosebeginn über die normale Zeit hinaus verschieben; seine Tiere starben im Mai und Juni ohne Metamorphoseanzeichen.

Betrachtet man die Temperaturverhältnisse im See in derjenigen Tiefe, in welcher sich die Diapauselarven aufhalten, (10—20 m), so zeigen sie den in Abb. 35 dargestellten Verlauf.

Vom Dezember bis März herrscht eine konstante Temperatur von 4° C. Mitte März erwärmt sich das Wasser plötzlich um ca 2° C, die Seetemperatur steigt dann weiter an und erreicht im Juli/August ihr Maximum. Die Temperaturmessungen stammen aus der See-Mitte; es ist anzunehmen, dass sich das Wasser in der Uferzone noch rascher erwärmt, als es hier dargestellt ist. Aus der graphischen Darstellung geht deutlich hervor, dass dieser Temperaturanstieg im April/Mai mit dem Zeitpunkt zusammenfällt, in welchem die Diapauselarven aus dem See an Land wandern und mit der Metamorphose beginnen. Eine Temperatursteigerung von wenigen Gra-

den würde demnach bewirken, dass die Thoraxdrüse ihr Metamorphosehormon ausschüttet.

Während der Diapause finden demnach Konzentrationsverschiebungen zwischen dem Corp. allatum-Hormon einerseits und dem Thoracaldrüsen-Hormon anderseits statt. Das Larvenhäutungshormon wird eliminiert und das Metamorphosehormon angereichert. Die Metamorphosebereitschaft des Organismus ist bereits in den jüngsten Larvenstadien vorhanden. Während der Larvenperioden würden die Häutungen den Charakter von Puppenhäutungen aufweisen, wenn ihnen nicht der Corp. allatum-Wirkstoff larvales Gepräge geben würde.

Ich möchte noch kurz auf die von Geigy u. Ochsé und Ochsé beschriebenen Thorax/Abdomen-Schnürungen eingehen. Die Autoren erhielten bei dieser Schnürung auf der Grenze zwischen dem Thorax III und dem ersten Abdominalsegment bei Diapauselarven vorn und hinten Teilverpuppung. Dieses Resultat kann nur damit erklärt werden, dass sich zur Zeit der Operation bereits Metamorphosehormon im Abdomen befand, was eine unvollständige Metamorphose auszulösen vermochte. Wahrscheinlich wurden diese Tiere vor der Schnürung zu lange in Zimmertemperatur gehalten.

Schnürungen zwischen den einzelnen Thoraxsegmenten sind undurchführbar, da der Chitinpanzer zu hart ist und bei Anbringen der Ligatur regelmässig Verletzungen eintreten.

Wenn auch die experimentellen Ergebnisse über die Thoraxdrüse zahlenmässig noch nicht überzeugend sind, so kann es trotzdem als ziemlich gesichert gelten, dass das von mir als Prothoraxdrüse beschriebene Organ der Bildungsort des Metamorphosehormons ist. Die Lage, der histologische und cytologische Aufbau, die morphologische Struktur, die Tracheenversorgung, sowie die Degeneration der Drüse in den Imagines sprechen dafür. Ein Vergleich mit den diesbezüglichen Resultaten anderer Autoren bestärken meine Angaben. Es wäre interessant, das histo-cytologische Verhalten der Thoraxdrüse während der Entwicklung von *Sialis* vom Ei bis zur Imago zu verfolgen. Eventuell könnten dadurch Veränderungen der Drüse im Verlauf der einzelnen Häutungsperioden und der Metamorphose festgestellt werden.

Interessant ist, dass bei dieser Insektenart, die viele archaische Merkmale aufweist, das gesamte hormonale System, welches die postembryonale Entwicklung steuert, bereits ebenso vollständig

ausgebildet ist, wie bei höher evoluierten Formen, wie z.B. den Lepidopteren. Die Lage der Corp. allata stellt wohl einerseits noch ein typisch primitives Merkmal dar, der Bau der Prothoraxdrüsen kann andererseits schon mit demjenigen der Lepidopteren-Prothoraxdrüsen verglichen werden.

SCHLUSSBETRACHTUNG

Projiziert man die Resultate der Experimente auf die Verhältnisse in der Natur, so erhalten wir folgende Deutung des zweijährigen Entwicklungszyklus:

Die frisch geschlüpften Larven fallen ins Wasser und gelangen nach kurzem planktontischen Leben in den Seeschlamm. Hier halten sie sich unter mehr oder weniger starkem Ortswechsel zwei Jahre auf und durchlaufen ihre neun Häutungsstadien. Ungefähr 35 Tage vor jeder Larvenhäutung wird das Metamorphosezentrum durch einen Stimulus vom Gehirn aus angeregt. Dieses Zentrum, die Prothoraxdrüse, gibt ihr Metamorphosehormon ab, das eine Puppenhäutung bewirken würde, wenn nicht die Corp. allata durch ihr Juvenilhormon diese Häutung in eine Larvenhäutung abwandeln würden. Die „kritische Periode“, während der das Corp.-allatum-Hormon abgegeben wird, liegt fünf Tage vor der Häutung. Dieser Vorgang wiederholt sich neun Mal bis das letzte Larvenstadium im September des zweiten Jahres erreicht ist. Das Gehirn stimuliert noch ein letztes Mal die Thoraxdrüse, diese gibt aber ihr Hormon nicht mehr ab, sondern speichert den Wirkstoff. Gleichzeitig erlahmt auch die Tätigkeit der Corpora allata, es wird kein Larvenhäutungshormon mehr produziert. Die Larven treten ins Diapausestadium ein, welches bis zum Frühjahr dauert. Mitte April, wahrscheinlich durch die Erwärmung des Sees, wird die Prothoraxdrüse zu neuer Tätigkeit aktiviert und schüttet ihr gespeichertes Metamorphosehormon in den Körper aus. Damit ist der ganze Verwandlungsvorgang angekurbelt worden; die Kiemen beginnen sich zu retrahieren und die reifen Larven wandern ans Ufer. Sicherlich wird diese plötzliche Wanderung durch die beginnende Metamorphose ausgelöst. Am Ufer graben sich die Tiere in den feuchten Sand ein, streifen sich die Larvenhaut ab und

durchlaufen ein kurzes Puppenstadium. Bei schönem, warmem Wetter schlüpfen dann die Imagines aus. Bei ihnen degeneriert die Prothoraxdrüse, denn sie hat ihre Aufgabe erfüllt. Nach erfolgter Copulation deponieren die Weibchen ihre Eier an Schilfhalmen über dem Wasser und damit kann der Kreislauf von neuem beginnen.

LITERATURVERZEICHNIS

1933. Bodenstein, D. *Zur Frage der Bedeutung hormonaler Beziehungen bei der Insektenmetamorphose.* Naturwiss. 21.

1939. —— *Investigations on the problem of metamorphosis VI Further studies on the pupal differentiation center.* Jour. Exp. Zool. 82.

1951. —— Internationaler Entomologenkongress Amsterdam.

1937. Bounhiol, J. J. *Métamorphose prématurée après ablation des Corp. allata chez le jeune ver à soie.* C. R. Acad. Sc. 205.

1938. —— *Recherches expérimentales sur le déterminisme de la métamorphose chez les lépidoptères.* Bul. Biol. France-Belg., suppl. XXIV.

1944. —— *Nymphes acéphales prématurées chez le ver à soie.* C. R. Soc. Biol. 138.

1935. Caspari u. Plagge. *Versuche zur Physiologie der Verpuppung von Schmetterlingsraupen.* Naturwiss. XXIII.

1938. Cazal, P. *Les glandes endocrines rétro-cérébrales des insectes.* Bul. Biol. France-Belg., suppl. XXXII.

1937. De Lerma, B. *Osservazioni sul sistema endocrino degli Insetti.* Arch. zool. ital. 24.

1948. Deroux-Stralla, D. *Recherches expérimentales sur le rôle des glandes ventrales dans la mue et la métamorphose chez Aeschna cyanea.* R. d. Sé. Acad. Sci. Paris, tome 227, nº 23.

1948. —— *Recherches anatomo-histologiques préliminaires à une étude des mécanismes endocrines chez les odonates.* Bul. Soc. Zool. France, 78.

1935. Du Bois, A. M. u. Geigy, R. *Beiträge zur Oekologie, Fortpflanzungsbiologie und Metamorphose von Sialis lutaria.* Rev. suisse de Zool. 42.

1936. Du Bois, A. M. *Recherches expérimentales sur la détermination de l'embryon dans l'œuf de Sialis lutaria.* Rev. suisse de Zool. 43.

1938. —— *La détermination de l'ébauche embryonnaire chez Sialis lutaria.* Rev. suisse de Zool. 45.

1940. Fukuda, S. *Induction of pupation in silkworms by transplanting the prothoracic glands.* Proc. Imp. Acad. Tokyo, 16.

1940. —— *Hormonal control of molting and pupation in the silkworm.* Proc. Imp. Acad. Tokyo, 16.

1941. —— *Role of the prothoracic gland in differentiation of the imaginal characters in the silkworm pupa.* Annot. Zool. Japon, 20.

1944. —— *The hormonal mechanism of larval molting and metamorphosis in the silkworm.* Jour. Fac. Sci. Tokyo, Imp. Univ., Sec. 4, 6.

1937. GEIGY, R. *Beobachtungen über die Metamorphose von Sialis lutaria.* Mitteil. der Schweiz. Entom. Ges. Bd. XVII, 4.

1947. —— *Etude expérimentale de la métamorphose de Sialis lutaria.* Bul. Biol. de France-Belg., suppl. XXXIII.

1940. GEIGY, R. u. OCHSÉ, W. *Versuche über die inneren Faktoren der Verpuppung bei Sialis lutaria.* Rev. suisse Zool. 47.

1935. GEIGY, R. u. DU BOIS, A. M. *Sinnesphysiologische Beobachtungen über die Begattung von Sialis lutaria.* Rev. suisse Zool. 42.

1940. GEIGY, R. u. OCHSÉ, W. *Schnürungsversuche an Larven von Sialis lutaria.* Rev. suisse Zool. 47.

1951. GEIGY, R. u. RAHM, U. *Beiträge zur experimentellen Analyse der Metamorphose von Sialis lutaria.* Rev. suisse Zool. 58.

1938. HANSTRÖM, B. *Zwei Probleme betreffs der hormonalen Lokalisation im Insektenkopf.* Lunds Univ. Arsskr. N. F. avd. 2, No. 16.

1942. —— *Die Corpora cardiaca und Corpora allata der Insekten.* Biologia generalis, XV.

1949. KAISER, P. *Histologische Untersuchungen über die Corpora allata u. Prothoraxdrüsen der Lepidopteren in Bezug auf ihre Funktion.* Roux' Archiv, Bd. 144.

1930. KE, O. *Morphological variation of the prothoracic gland in the domestic and the wild silkworms.* Bul. Sci. Fak. Terkultura Kjusu, Imp. Univ. Vol. 4, N. 1.

1917. KOPEČ, St. *Experiments on metamorphosis of insects.* Bul. intern. Acad. Sc. Cracovie, math.-Sc. nat.

1922. —— *Studies on the necessity of the brain for the inception of insect metamorphosis.* Biol. Bul. 42.

1936. KÜHN, A. u. PIEPHO, H. *Ueber hormonale Wirkungen bei der Verpuppung der Schmetterlinge.* Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, 2.

1948. LEE, H. T. *A comparative morphological study of the prothoracic glandular bands of some lepidopterous larvae with special reference to their innervation.* Ann. Ent. Soc. Amer. 41.

1944. OCHSÉ, W. *Experimentelle und histologische Beiträge zur inneren Metamorphose von Sialis lutaria.* Rev. suisse Zool. 51.

1937. PFLUGFELDER, O. *Bau, Entwicklung und Funktion der Corpora allata und Cardiaca von Dixippus mor.* Zschr. Wiss. Zool. 149.

1937. —— *Untersuchungen über die Funktion der Corpora allata der Insekten.* Verh. Deut. Zool. Ges. 1937.

1939. —— *Hormonale Wirkungen im Lebenslauf der Stabheuschrecken.* Forsch. u. Fortschr. 15.

1949. —— *Die Funktion der Pericardialdrüsen der Insekten.* Verh. der Deut. Zoologen Mainz, 1949.

1939. PIEPHO, H. *Hemmung der Verpuppung durch Corpora allata von Jungraupen bei der Wachsmotte Galleria mel.* Naturwiss. 27, 40.

1940. —— *Ueber die Hemmung der Verpuppung durch Corpora allata*. Biol. Zen. bl. Bd. 60, Heft 7/8.
1943. —— *Wirkstoffe in der Metamorphose von Schmetterlingen und anderen Insekten*. Naturwiss. 29/30.
1946. —— *Versuche über die Rolle von Wirkstoffen in der Metamorphose der Schmetterlinge*. Biol. Zen. bl. Bd. 65, 4/6.
1948. —— *Zur Frage der Bildungsorgane des Häutungswirkstoffes bei Schmetterlingen*. Naturwiss. 35, Heft 3.
1938. Plagge, E. *Weitere Untersuchungen über das Verpuppungshormon bei Schmetterlingen*. Biol. Zen. bl. 58.
1951. Possompès, B. Internationaler Entomologenkongress Amsterdam.
1948. Scharrer, B. *The prothoracic glands of Leucophaea maderae*. Biol. Bul. 95.
1943. Thomsen, E. *Effect of Corpus cardiacum and other insect organs on the colour change of Leander*. Kgl. Danske Vid. Selsk. Biol. Medd. 19.
1903. Toyama, K. *Contributions to the study of silkworms*. Bul. Coll. Agric. Tokyo, Imp. Univ.
1934. Wigglesworth, V. B. *The physiology of ecdysis in Rhodnius prolixus*. Quart. J. Micr. Sci. 76.
1935. —— *Functions of the Corpus allatum of insects*. Nature, 136.
1936. —— *The function of the Corpus allatum in the growth and reproduction of Rhodnius*. Quart. J. Micr. Sci. 79.
1940. —— *The determination of characters at metamorphosis in Rhodnius*. J. of Exp. Biol. Vol. XVII, No. 2.
1947. —— *The functions of the Corpus allatum in Rhodnius*. J. of Exp. Biol. Vol. 25, No. 1.
1946. Williams, C. M. *Physiology of insect diapause: The role of the brain in the production and termination o fpupal dormancy in the giant silkworm, Platysamia*. Biol. Bull. 90.
1947. —— *Physiology of insect diapause II: Interaction between the pupal brain and prothoracic glands in the metamorphosis of the giant silkworm*. Biol. Bull. 93.
1948. —— *Physiology of insect diapause III: The prothoracic glands in the Cecropia silkworm, with special reference to their significance in embryonic and postembryonic development*. Biol. Bull. 94.
1949. —— *Extrinsic control of morphogenesis as illustrated in the metamorphosis of insects*. Growth 12.
1949.—— *Physiology of insect diapause IV: The developmental functions of the brain in the giant silkworm, Platysamia*.
1949. —— *The prothoracic glands of insects in retrospect and in prospect*. Biol. Bull. 97.